



СГУ ИМ. Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО
14 - 19 ИЮНЯ 2024
САРАТОВ

СБОРНИК ТЕЗИСОВ МЕЖДУНАРОДНОГО КОНГРЕССА

**VIII СЪЕЗД ВАВИЛОВСКОГО ОБЩЕСТВА
ГЕНЕТИКОВ И СЕЛЕКЦИОНЕРОВ,**
ПОСВЯЩЕННЫЙ 300-ЛЕТИЮ
РОССИЙСКОЙ НАУКИ И
ВЫСШЕЙ ШКОЛЫ



congress.
vogis.
org



ВАВИЛОВСКОЕ
ОБЩЕСТВО
ГЕНЕТИКОВ
И СЕЛЕКЦИОНЕРОВ
(ВОГиС)

САРАТОВСКИЙ
НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ
ИМ. Н. Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО
(СГУ)



МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС

«VIII Съезд Вавиловского общества

генетиков и селекционеров, посвященный

300-летию российской науки и высшей школы»

Саратов

14-19 июня 2024 года

INTERNATIONAL CONGRESS

“VIII CONGRESS OF THE VAVILOV SOCIETY OF GENETICISTS AND BREEDERS,

DEDICATED TO THE 300TH ANNIVERSARY

OF RUSSIAN SCIENCE AND HIGHER EDUCATION”

SARATOV

JUNE 14-19, 2024

СБОРНИК ТЕЗИСОВ

BOOK OF ABSTRACTS

ББК 28/04
УДК 575.1/2

Международный Конгресс «VIII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 300-летию российской науки и высшей школы». Саратов, 14–19 июня 2024 года | INTERNATIONAL CONGRESS “VIII Congress of the Vavilov Society of Geneticists and Breeders, dedicated to the 300th anniversary of Russian science and higher education” Saratov, June 14–19, 2024 Издательский дом «Петрополис», Санкт-Петербург, 2024. — 804 с.

В сборнике тезисов Международного Конгресса «VIII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 300-летию российской науки и высшей школы» (14-19 июня 2024 г., Саратов, Россия) представлены тезисы докладов участников Конгресса, одобренных программным комитетом. Тезисы опубликованы в авторской редакции.

Научное электронное издание

Статьи печатаются в авторской редакции.

ISBN 978-5-9676-1604-4

© Межрегиональная общественная организация
Вавиловское общество генетиков и селекционеров
(ВОГиС), 2024
© Коллектив авторов, 2024
© ИД «Петрополис», 2024



СОДЕРЖАНИЕ

ТЕЗИСЫ ПЛЕНАРНЫХ ДОКЛАДОВ ABSTRACTS OF PLENARY LECTURES

Мультибелковые ядерные комплексы в регуляции экспрессии генов	56
<i>С. Г. Георгиева</i>	
Изучая минимальную клетку: от системной к синтетической биологии	57
<i>В. М. Говорун</i>	
Коллекции генетических ресурсов сельскохозяйственных животных и их значение для развития науки и практического животноводства	58
<i>Н. А. Зиновьева</i>	
Развитие генетических исследований в Беларуси	59
<i>А. В. Кильчевский</i>	
Иммунные системы бактерий: увидеть вирус и умереть	60
<i>А. В. Кульбачинский</i>	
Репарация ДНК в обеспечении стабильности генома и здоровья человека	61
<i>О. И. Лаврик</i>	
Молекулярно-генетическая диагностика как основа персонализированной терапии наследственных заболеваний человека	62
<i>А. В. Поляков</i>	
Роль пространственной организации генома в регуляции транскрипции	63
<i>А. К. Голов, А. А. Гаврилов, А. С. Штомпель, С. В. Ульянов, С. В. Разин</i>	
Генетические технологии в развитии промышленной микробиологии	64
<i>А. С. Яненко</i>	
Программа Союзного государства «ДНК-идентификация»: результаты взаимодействия российских и белорусских генетиков	65
<i>Н. К. Янковский</i>	
Integrative bioinformatics approaches towards modelling non-coding RNA interactome of the whole plant cell	66
<i>Ming Chen</i>	

ТЕЗИСЫ СИМПОЗИАЛЬНЫХ ДОКЛАДОВ ABSTRACTS OF TALKS

Симпозиум 1: Репликация, транскрипция, трансляция Symposium 1: Replication, Transcription, Translation

Структура транскриптомов бактерий и метатранскриптомика патосистем	68
<i>Ю. В. Гоголев, Т. А. Коннова, Е. В. Осипова, Н. Е. Гоголева, Х. Х. Хамо Хамза, А. С. Балкин</i>	
Конфликты транскрипции и репликации у бактерий и их последствия	69
<i>Д. М. Есюнина, В. А. Пантелеев, Б. К. Годнеева, А. В. Кульбачинский</i>	



Антибиотик Мадумицин II оказывает плейотропное действие на рибосому	70
<i>Шуленина О. В., Пичкур Е. Б., Толстыко Е. А., Касацкий П. С., Полесскова Е. В., Коневега А. Л.</i>	
Толерантность к повреждениям ДНК	71
<i>А. В. Макарова</i>	
Влияние невесомости на эпигенетическую регуляцию экспрессии генов	72
<i>И. В. Огнева</i>	
Пост-транскрипционные модификации внутриклеточных и секретируемых бактериями РНК	73
<i>О. Н. Озолинь, К. С. Шавкунов, Н. П. Кольжецов, Н. Ю. Маркелова</i>	
hTERP-сенсор или регулятор пролиферации и метаболизма клеток?	74
<i>М. П. Рубцова, М. С. Корягина, Т. Е. Пахомова, М. А. Шамонова, О. А. Донцова</i>	
Редактирование генома мышей от фундаментальной науки к персонализированной медицине	75
<i>П. В. Сергиев</i>	
Братство кольца: SMC-комплексы как машины для формирования петель ДНК	76
<i>С. В. Ульянов</i>	
Синтез ДНК-полимеразами на субстратах с модифицированными АП-сайтами	77
<i>А. В. Юдкина</i>	

Симпозиум 2: Экологическая генетика и генетическая токсикология Symposium 2: Ecological Genetics and Genetic Toxicology

Семилетний опыт использования бактериальных lux-биосенсоров в генотоксикологических исследованиях	79
<i>С. К. Абилов, С. В. Смирнова, Е. В. Игонина, Д. А. Кашатникова</i>	
Влияние позиции нуклеотидов sgRNA, некомплементарных целевой последовательности, а также последовательности сайта РАМ на эффективность Cas9	80
<i>Д. М. Девяткин, А. Р. Шумегз, Е. И. Степченкова</i>	
Изучение биоразнообразия водоплавающих птиц с помощью методов, основанных на детекции свободной ДНК в водной среде	81
<i>А. Г. Демин, С. А. Галкина, А. В. Ильина, Д. А. Стариков, А. Ю. Скрипниченко, О. Д. Такки</i>	
Генотоксикология в аспекте защиты здоровья человека	82
<i>А. Д. Дурнев, А. К. Жанатаев</i>	
Совершенствование метода оценки обратных генных мутаций на бактериях	83
<i>О. В. Егорова, Ю. В. Ревазова, Н. А. Илюшина</i>	
Перспективы таргетного антимутагенеза	84
<i>А. К. Жанатаев</i>	
100 лет наблюдений за составом популяций: последствия глобального потепления и загрязнения атмосферы (исследования на <i>Adalia bipunctata</i>)	85
<i>И. А. Захаров-Гезехус</i>	
Цитогенетические эффекты микропластика у растительных организмов	86
<i>В. Н. Калаев, Е. А. Калаева, Д. А. Копина, В. А. Петриева, А. А. Петрова</i>	
Генетические и эпигенетические маркеры опосредованной средой токсичности малых доз диоксинов для млекопитающих (на примере <i>Clethrionomys glareolus</i>)	87
<i>А. Р. Лавренов, Т. А. Мышлявкина, В. С. Румах, Н. В. Умнова, А. И. Ким</i>	



Использование цельноклеточных lux-биосенсоров в экотоксикологических исследованиях	88
<i>У. С. Новоятлова, И. В. Манухов, С. В. Баженов</i>	
Генетические и физиологические основы возникновения вредоносных цветений потенциально токсичных динофлагеллят в прибрежных зонах морей	89
<i>С. О. Скарлато</i>	
Генетическое разнообразие потенциальных возбудителей зоонозных инфекций из рукокрылых и насекомоядных (ежей): метавирусный анализ биологических образцов от животных, пойманных на территории европейской части России	90
<i>А. С. Сперанская, Е. В. Корнеев, А. В. Лукина-Гронская, И. К. Чудинов, С. Д. Машкова, И. В. Сонец, А. Е. Самойлов, Т. А. Семашко, Е. М. Литвинова, В. Г. Дедков</i>	
Современное развитие физиологической гипотезы мутационного процесса М. Е. Лобашева и ее значение для генетической токсикологии	91
<i>Е. И. Степченкова, А. С. Жук, С. Г. Инге-Вечтомов</i>	

Симпозиумы 3, 18: Биоинформатика и системная биология
Symposia 3, 18: Bioinformatics and Systems Biology

Системная биология для решения задач промышленной биотехнологии	93
<i>И. Р. Акбердин</i>	
Моделирование продуктивности нута с помощью синтетических изображений и сверточной нейронной сети	94
<i>М. П. Банкин, Я. А. Тыркин, М. Г. Самсонова, К. Н. Козлов</i>	
Computer-based reconstruction and analysis of gene networks using the cognitive system ANDSystem	95
<i>A. S. Venzel, P. S. Demenkov, T. V. Ivanisenko, E. A. Antropova, A. L. A Makarova, A. V. Adamovskaya, N. A. Kolchanov, V. A. Ivanisenko</i>	
Транскриптомика единичных клеток как метод изучения функционального состояния иммунной системы больных раком молочной железы в ходе химиотерапии	96
<i>Т. С. Герашенко, А. А. Фролова, М. Р. Патышева, А. А. Федоров, А. П. Филатова, П. С. Ямщиков, Н. В. Чердынцева</i>	
Метаанализ профилей дифференциальной экспрессии генов: к вопросу о выборе данных	97
<i>А. В. Тяпкин, В. В. Лавреха, Н. А. Омелянчук, Е. В. Землянская</i>	
AtSNP_TATAdb: кандидатные молекулярные маркеры полезных свойств растений, связанные с однонуклеотидным полиморфизмом проксимальных промоторов <i>Arabidopsis thaliana</i> L.	98
<i>К. Золотарёва, А. Богомолов, С. Филонов, И. Чадаева, Д. Рассказов, Е. Шарыпова, Н. Подколотный, П. Пономаренко, Л. Савинкова, Н. Твердохлеб, Б. Хандаев, Е. Кондратюк, О. Подколотная, Е. Землянская, Н. А. Колчанов, М. Пономаренко</i>	
Пластичность резистома природных биотопов человека	99
<i>Е. Н. Ильина</i>	
Исследование вариаций и структуры генома сортов картофеля <i>Solanum tuberosum</i> , выращиваемых в России	100
<i>Д. И. Каретников, Г. В. Васильев, С. В. Тоцаков, Н. А. Шмаков, М. А. Генаев, М. А. Нестеров, С. М. Ибрагимов, Д. А. Рыбаков, Т. А. Гавриленко, Е. А. Салина, М. В. Патрушев, А. В. Кочетов, Д. А. Афонников</i>	



Биоинформатическая квантификация экологических функциональных групп симбиотической микробиоты кишечника человека на основе данных высокопроизводительного секвенирования	101
<i>А. И. Клименко, А. И. Кропочев, С. А. Лашин</i>	
Выявление роли <i>fae</i> -гомологов у метанотрофных бактерий <i>Methylovimicrobium alcaliphilum</i> 20ZR с помощью контекст-зависимых потоковых математических моделей при культивировании на различных субстратах	102
<i>М. А. Куляшов, Ю. Афшин, С. К. Колмыков, Т. С. Соколова, Р. Хамилтон, Т. М. Хлебодарова, М. Г. Калюжная, И. Р. Акбердин</i>	
Наличие или отсутствие нерибосомных пептидов существенно влияет на оптимизационные стратегии эффективности элонгации трансляции в бактериальных геномах	103
<i>Ю. Г. Матушкин, А. И. Клименко, С. А. Лашин, Д. А. Афонников</i>	
«Темная материя» бактериального генома: что пропускают системы автоматической аннотации и как с этим бороться	104
<i>Е. А. Николайчик, П. В. Вычик, А. В. Дигрис, Е. И. Дувалов, В. В. Скакун</i>	
Поиск и анализ длинных некодирующих РНК в масштабах пан-транскриптома кукурузы	105
<i>А. Ю. Пронозин, Д. А. Афонников</i>	
Метагеномы пчел: как функционирует «общий» геном пчелиного улья	106
<i>Д. В. Смутин, А. Х. Тальдаев, Е. Е. Лебедев, Л. С. Адонин</i>	
Моделирование регуляторного модуля, ответственного за активацию цветения у бобовых при яровизации	107
<i>М. А. Дук, М. А. Дук, В. В. Гурский, М. Г. Самсонова, С. Ю. Суркова</i>	
Нарушение <i>mTOR</i> -зависимой аутофагии при болезни Паркинсона, ассоциированной с мутациями в гене <i>GBA1</i> , на основе анализа транскриптома	108
<i>Т. С. Усенко, А. И. Безрукова, К. С. Башарова, М. М. Руденок, И. В. Милюхина, Е. Ю. Захарова, П. А. Сломинский, С. Н. Пчелина</i>	
Математические модели, объединяющие экологический и генетический подходы в математической популяционной биологии	109
<i>Е. Я. Фрисман</i>	
Онтологический подход к анализу дифференциальной экспрессии генов на основе больших транскриптомных данных	110
<i>Д. Ю. Ощепков, С. Г. Шихевич, О. Е. Редина, И. В. Чадаева, Р. В. Кожемякина, К. Золотарева, Б. Хандаев, Е. Б. Шарыпова, П. М. Пономаренко, А. Г. Богомолов, Н. В. Климова, Н. Г. Колосова, М. Назаренко, Н. А. Колчанов, А. Л. Маркель, М. П. Пономаренко</i>	

Симпозиум 4: Медицинская генетика и моделирование болезней человека Symposium 4: Medical Genetics and Modeling of Human Diseases

Таргетная терапия наследственных форм болезни Паркинсона на основе ингибирования киназной активности, обогащенной лейциновыми повторами киназы 2 (<i>LRRK2</i>)	112
<i>К. С. Башарова, А. И. Безрукова, Е. В. Григорьева, С. В. Павлова, Г. В. Байдакова, А. Д. Изюмченко, М. А. Николаев, И. В. Милюхина, С. П. Медведев, Е. Ю. Захарова, С. Н. Пчелина, Т. С. Усенко</i>	
Гены, кодирующие белки-герои (<i>Hero</i>) – новые «игроки» в риске развития ишемического инсульта	113
<i>О. Ю. Бушueva</i>	



Транскриптомный анализ образцов первичных моноцитов крови, полученных от больных COVID-19 с летальными и нелетальными исходами	114
<i>И. Н. Власов, Т. С. Усенко, А. А. Пантелева, М. А. Николаев, А. Д. Изюмченко, Е. Г. Гаврилова, И. В. Шлык, Ю. С. Полушин, С. Н. Пчелина, М. И. Шадрина, П. А. Сломинский</i>	
Роль альтернативного сплайсинга в патогенезе преэклампсии	115
<i>М. М. Гавриленко, А. А. Бабовская, А. А. Зарубин, Е. А. Трифонова, В. А. Степанов</i>	
Секвенирование экзома человека и перспективы предиктивной медицины: анализ международных данных и собственного опыта. Развитие концепции медицины ЗП проф. В. С. Баранова	116
<i>О. С. Глотов</i>	
Генетические и эпигенетические факторы, влияющие на уровень α -синуклеина при болезни Паркинсона	117
<i>А. К. Емельянов, А. О. Лавринова, А. С. Журавлев, Г. В. Байдакова, И. В. Милюхина, М. И. Шадрина, Е. Ю. Захарова, С. Н. Пчелина</i>	
IQGAP3 координирует широкий спектр сигнальных каскадов в кератиноцитах при воспалении ..	118
<i>А. Д. Золотаренко, С. А. Брускин</i>	
Спектр генетических нарушений при лекарственно-устойчивой эпилепсии у детей в Республике Беларусь	119
<i>А. С. Иванова, С. Л. Куликова, В. В. Александрович, О. Д. Левданский, М. Г. Синявская, Н. Г. Даниленко, Л. Н. Сивецкая, И. М. Голоенко, О. Г. Давыденко</i>	
Моделирование хромосомных болезней человека: достижения и перспективы	120
<i>А. А. Кашеварова, М. Е. Лопаткина, Т. В. Никитина, И. Н. Лебедев</i>	
Коррекция мутации F508del в гене <i>CFTR</i> с использованием CRISPR/Cas9 в ИПСК и базальных клетках дыхательных путей, полученных от пациентов с муковисцидозом	121
<i>Е. В. Кондратьева, А. Г. Демченко, О. В. Володина, А. В. Лавров, С. А. Смирнихина</i>	
Моделирование <i>in vitro</i> функциональных эффектов вариантов гена <i>GJB2</i> (коннексин 26), ассоциированных с потерей слуха	122
<i>Е. А. Маслова, К. Е. Орщенко, О. Л. Посух</i>	
Генетическое тестирование наследственных форм болезни Паркинсона и таргетная терапия	123
<i>С. Н. Пчелина</i>	
Анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов микроРНК и генов-мишеней микроРНК с развитием аллергических заболеваний верхних дыхательных путей у индивидов из Республики Башкортостан	124
<i>О. Н. Савельева, А. С. Карунас, А. О. Власова, Ш. З. Загидуллин, Э. И. Эткина, Э. К. Хуснутдинова</i>	
Уровень метилирования импринтированных генов <i>DLK1</i> и <i>MKRN3</i> у пробандов с преждевременным половым созреванием	125
<i>Е. А. Саженова, О. Ю. Васильева, Е. А. Фонова, А. Ю. Самбялова, Е. Е. Храмова, Л. В. Рычкова, М. Б. Канканам Патцранаге, С. А. Васильев, И. Н. Лебедев</i>	

Симпозиум 5: Селекция и биотехнология животных Symposium 5: Animal Breeding and Biotechnology

Криорезистентность и приживляемость эмбрионов овец, полученных на разной стадии развития и криоконсервированных разными технологиями	127
<i>А. М. М. Айбазов, М. И. Селионова</i>	



Изменчивость выборок племенных быков и коров костромской породы крупного рогатого скота по маркерам генов-кандидатов и их ассоциации с признаками молочной продуктивности	128
<i>И. В. Лазебная, О. Е. Лазебный</i>	
Активность тиреоидной системы, липидные профили и репродуктивная способность ассоциированы с полиморфизмом гена <i>FASN</i> у коров черно-петрой породы	129
<i>И. Ю. Лебедева, М. В. Позовникова, О. С. Митяшова</i>	
Тиреоидный профиль и стероидогенная активность яичников после искусственного осеменения коров с разными полиморфными вариантами гена <i>DIO1</i>	130
<i>О. С. Митяшова, О. В. Костюнина, О. В. Алейникова, И. Ю. Лебедева</i>	
Оценка биоразнообразия аборигенного крупного рогатого скота, разводимого в Республике Беларусь	131
<i>М. Е. Михайлова, Т. В. Долматович</i>	
Изучение полиморфизмов, влияющих на фертильность крупного рогатого скота белорусской селекции	132
<i>Е. Л. Романишко, М. Е. Михайлова, А. И. Киреева</i>	
Анализ ассоциаций однонуклеотидных замен с компонентами молока коз	133
<i>М. И. Селионова, В. И. Трухачев, А. А. Белоус</i>	
Идентификация полиморфизма в генах, ассоциированных с биомаркерами компонентного состава молока коров, с использованием методов геномного анализа и инфракрасной спектроскопии	134
<i>А. А. Сермягин, Н. А. Зиновьева</i>	
Длина теломер как перспективный маркер для селекции крупного рогатого скота на продолжительность хозяйственного использования	135
<i>Н. С. Юдин, А. В. Игошин, Г. А. Ромашов, Д. М. Ларкин</i>	

Симпозиум 6: Пост-трансляционные процессы Symposium 6: **Post-translational Processes**

Уникальные димеризующиеся N-концевые домены типа «C2H2-цинковые пальцы» <i>D. melanogaster</i>	137
<i>К. И. Балагуров, А. Н. Бончук, П. Г. Георгиев</i>	
Порины OmpC и OmpF <i>Salmonella enterica</i> и <i>Escherichia coli</i> обладают амилоидными свойствами	138
<i>М. В. Белоусов, А. О. Косолапова, Х. Фаюд, М. И. Сулацкий, А. И. Сулацкая, М. Н. Романенко, А. Г. Бобылев, К. С. Антонец, А. А. Нижников</i>	
Стресс, рак и инфекционные заболевания – пусковые механизмы спорадических амилоидозов	139
<i>А. П. Галкин</i>	
Роль неструктурированных NM-доменов дрожжевого белка Sup35 в его фазовой сепарации	140
<i>Н. А. Горшенева, А. В. Гризель, А. Е. Гаврилов, К. Ю. Куличихин, А. А. Рубель, Ю. О. Чернов</i>	
Молекулярно-генетические характеристики последствий нарушения терминации трансляции	141
<i>Г. А. Журавлева</i>	
Новый функциональный амилоид, регулирующий морфогенез оболочки яйца <i>Drosophila melanogaster</i>	142
<i>С. П. Задорский, А. А. Валина, В. А. Синюкова, Т. А. Белашова, С. А. Галкина, А. П. Галкин</i>	



Комплексы CDK1/CDC28, SAGA, RENT и хронологическое старение	143
<i>Н. А. Колтовая, Р. Христова, А. Господинов</i>	
Антимикробные свойства и структура амилоидогенных пептидов	144
<i>С. В. Кравченко, О. В. Галзитская, С. Ю. Гришин</i>	
Картирование прионных структур белка дрожжей Rnq1	145
<i>В. Кушниров, А. Галлямов, А. Малухина</i>	
Исследование влияния фосфорилирования на структурные изменения белка	146
<i>К. С. Никольский, Л. И. Куликова, Д. В. Петровский, В. Р. Руднев, А. Л. Кайшева</i>	
Альтернативный сплайсинг и разнообразие форм GDNF – нейротрофактор или нейроиндуктор?	148
<i>Г. В. Павлова, Дж. В. Шамадыкова, В. В. Паршина, Д. Ю. Пантелеев, А. В. Ревущин</i>	

Симпозиум 7: Эволюционная генетика
Symposium 7: Evolutionary Genetics

Phylogenomic study of the evolutionary relationships of soft pines, genus <i>Pinus</i> , subgenus <i>Strobus</i>	150
<i>D. V. Politov, M. G. Dasgupta, K. V. Krutovsky</i>	
Реконструкция эволюционной истории, филогении и системы млекопитающих в эпоху геномики: успехи, новые вызовы, перспективы и ограничения	151
<i>Н. И. Абрамсон</i>	
Цитогенетика в исследованиях эволюции пшеницы и ее сородичей	152
<i>Е. Д. Бадаева</i>	
Формирование гибридной стерильности у некоторых представителей отряда <i>Rodentia</i>	153
<i>Т. И. Бикчурина, И. В. Картавцева, Ф. Н. Голенищев</i>	
Неадаптивная эволюция растений. Моделирование процессов	154
<i>Е. Ю. Андрианова, О. А. Павлова, И. А. Владимиров, Е. А. Скребенков, Д. И. Богомаз</i>	
Необычные варианты геномной и кариотипической эволюции у эукариот	155
<i>К. С. Задесенец, Н. И. Ершов, Н. Б. Рубцов</i>	
Генетическая изменчивость бактерий рода <i>Spiroplasma</i> (<i>Mollicutes</i>)	156
<i>Ю. Ю. Илинский, Р. А. Быков, М. А. Деменкова, А. С. Рябинин, П. С. Деменков</i>	
Генетическая структура степного сурка (<i>Marmota bobak</i> Müller, 1776) на основе изменчивости маркеров митохондриального генома	157
<i>С. Ю. Капустина, А. Р. Тухбатуллин, В. Г. Тамбовцева, А. А. Грачев, О. В. Брандлер</i>	
Молекулярная систематика, филогенетика и эволюция водных организмов: фундаментальные и прикладные аспекты	158
<i>Ю. Ф. Картавцев</i>	
Филогеографические закономерности внутривидовой изменчивости <i>Tulipa suaveolens</i> Roth европейской России и прилегающих территорий	159
<i>А. С. Кашин, Т. А. Крицкая</i>	
Неупрощаемая сложность Нох-гена	160
<i>М. А. Кулакова, Г. П. Маслаков, Л. О. Полюшкевич</i>	
Филогенетические взаимоотношения малоизученных пшеницевых через призму хлоропластного генома	161
<i>А. Р. Кулуев, Б. Р. Кулуев, А. В. Чемерис</i>	



Запрограммированная элиминация ДНК у животных	162
<i>Л. П. Малиновская</i>	
Тандемные повторы ДНК растений как маркеры хромосомной изменчивости и эволюции	163
<i>О. В. Муравенко</i>	
Молекулярная доместикация генов ретротранспозонов	164
<i>Л. Н. Нефедова, М. Л. Никитина, И. В. Кукушкина, А. И. Ким</i>	
<i>Desulforudis audaxviator</i> – «живое ископаемое» из глубинной подземной биосферы	165
<i>В. В. Кадников, А. В. Марданов, О. В. Карначук, Н. В. Равин</i>	
Полиплоидизация и локус-специфичные дубликации генов и вторичная диплоидизация кариотипов – изменения геномов и кариотипов на путях видообразования и прогрессивной эволюции растений	166
<i>А. В. Родионов</i>	
Влияние эволюции лесов Востока Азии на филогеографию рода <i>Takydromus</i>	167
<i>И. Н. Шереметьева, А. А. Попова</i>	
Рекомбинация как источник разнообразия токсинов <i>Cru</i> и расширения спектра поражаемых хозяев	168
<i>А. Е. Шиков, А. А. Нижников, К. С. Антонец</i>	
Первые итоги филогеномных исследований эволюции байкальских букетов видов	169
<i>Д. Ю. Щербаков</i>	

Симпозиум 8: Структурная и функциональная протеомика Symposium 8: Structural and Functional Proteomics

Мультиомиксные исследования немодельных организмов: что может пойти не так	171
<i>О. А. Гусев</i>	
Внеклеточные везикулы как источник диагностических маркеров	172
<i>В. Г. Згода, Н. А. Соловьева, С. Е. Новикова, Т. Е. Фарафонова, О. В. Тихонова</i>	
Изучение молекулярных механизмов ферроптоза в нейродегенерациях по масс-спектрометрическим данным антаргетного протеома	173
<i>О. М. Кудряшова, М. В. Баранникова, В. К. Сулягин, В. С. Ледеява, Д. А. Корженевский, А. Г. Шохина</i>	
Компьютерная оценка структурных и функциональных свойств белков на основе их структурных формул	174
<i>А. А. Лагунин</i>	
Прогнозирование N-ε-ацетилирования лизина белков человека на основе подструктурных дескрипторов молекулярных фрагментов	175
<i>Н. В. Лебедев, Д. А. Фильмонов, А. А. Лагунин</i>	
Протеомика индуцированной гранулоцитарной дифференцировки лейкозных клеток для поиска новых белков-регуляторов	176
<i>С. Е. Новикова, Т. В. Толстова, Л. К. Курбатов, Т. Е. Фарафонова, О. В. Тихонова, Н. А. Соловьева, А. Л. Русанов, В. Г. Згода</i>	
Анализ масс-спектрометрических данных с использованием моделей глубокого обучения	177
<i>Д. В. Петровский, К. С. Никольский, Л. И. Куликова, В. Р. Руднев, А. Л. Кайшева</i>	



Поиск и анализ новых амилоидогенных белков в протеоме человека	178
<i>А. А. Рубель, Ю. В. Андрейчук, А. А. Зелинский, М. В. Рябина, А. Ю. Аксёнова, А. Е. Зобнина, В. А. Прохоров, С. Г. Инге-Вечтомов, Ю. О. Чернов</i>	
Белок MBR – новый функциональный амилоид мозга млекопитающих	179
<i>Е. И. Сысов, А. А. Шенфельд, Т. А. Белашова, А. П. Галкин</i>	
Белок Dps <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> var. <i>Issatschenko</i> формирует фибриллы с амилоидными свойствами	180
<i>Х. Фаюд, М. В. Белоусов, М. И. Сулацкий, А. И. Сулацкая, А. А. Нижников</i>	
Системный анализ протеомов растений в ответ на недостаток влаги	181
<i>И. А. Фесенко, А. С. Мамаева, Р. А. Азаркина, А. А. Макеева, С. И. Ковальчук</i>	
Гликирование растительных белков в контексте онтогенетических изменений и экологических взаимодействий	182
<i>А. А. Фролов</i>	

Симпозиум 9: Генетика человека

Symposium 9: Human Genetics

Омики единичных клеток в исследованиях рака	184
<i>Е. В. Денисов, Т. С. Геращенко, М. Е. Меняйло, Е. С. Колегова, М. Р. Патышева, А. А. Хозяинова, П. С. Ямщиков, В. Ю. Коробейников, Е. В. Волчков, А. В. Иконников, К. И. Кирсанов, Т. И. Фетисов, В. М. Перельмутер, М. Г. Якубовская, Н. В. Чердынцева</i>	
Молекулярный ландшафт незавершенного остеогенеза у пациентов из Республики Башкортостан	185
<i>А. Р. Зарипова, Р. И. Хусаинова</i>	
Спектр патогенных генетических вариантов у пациентов с гиперхолестеринемией в Северо-Западном регионе России	186
<i>А. Д. Изюмченко, М. Н. Грунина, М. В. Музалевская, К. В. Драчева, К. В. Легостаева, А. Н. Куликов, С. В. Линькова, С. А. Уразгильдеева, Н. Н. Смирнова, В. С. Гуревич, С. Н. Пчелина, В. В. Мирошникова</i>	
Статистическое исследование генетических факторов фенотипической гетерогенности в генах с множественными ассоциированными редкими заболеваниями	187
<i>Т. Е. Лазарева, Ю. А. Барбитов, Ю. А. Насыхова, А. С. Готов</i>	
Цитогеномика онтогенеза: нестабильность и пластичность генома в индивидуальном развитии ..	188
<i>И. Н. Лебедев</i>	
Идентификация генных комплексов, ассоциированных с уровнем интеллекта человека	189
<i>И. Б. Моссэ, Т. В. Докукина</i>	
Молекулярный портрет атеросклеротической бляшки	190
<i>М. С. Назаренко, А. А. Слепцов, В. П. Пузырев</i>	
Популяционная транскриптомика децидуальных клеток человека при физиологической и патологической беременности	191
<i>Е. А. Трифонова, А. А. Бабовская, А. А. Зарубин, М. Г. Сваровская, В. А. Степанов</i>	
Особенности формирования судебных баз данных по гаплогруппам Y-хромосомы для мегаполисов с учетом миграции	192
<i>И. Г. Удина, А. С. Грачева, М. А. Губина, О. Л. Курбатова</i>	



Самодийский генетический субстрат в генофондах коренных народов Западной и Южной Сибири	193
<i>В. Н. Харьков, Л. В. Валихова, Н. А. Колесников, А. А. Зарубин, И. Ю. Хитринская, В. А. Степанов</i>	
Принципы эволюционной геномики в картировании наследственных факторов аутоиммунных заболеваний: опыт Эстонского Биобанка	194
<i>Б. Б. Юнусбаев, С. С. Ряховский, М. М. Юнусбаева</i>	

Симпозиум 10: Селекция и биотехнология растений

Symposium 10: Plant Biotechnology and Breeding

Development of haploid induction lines based on genome editing in <i>Brassica oleracea</i>	196
<i>Xinyu Zhao, Hongrun Li, Kaiwen Yuan, Limei Yang, Yangyong Zhang, Yong Wang, Jialei Ji, Zhiyuan Fang, Honghao Lv</i>	
VIGS in sunflower: optimizing easy protocol to enhance viral spread and silencing efficiency	197
<i>M. Mardini, M. Y. Kazantsev, E. A. Ivoilova, V. V. Utkina, I. V. Kirov,</i>	
Компьютерные методы фенотипирования колоса пшеницы	198
<i>Д. А. Афонников</i>	
Удвоенные гаплоиды vs Speed Breeding: что быстрее, проще и эффективнее?	199
<i>А. О. Блинков, Е. В. Козарь, М. Алкубеси, В. М. Нагамова, Н. Ю. Свистунова, А. А. Кочешкова, М. Г. Дивашук</i>	
Генетический контроль биосинтеза флавоноидных пигментов у ржи <i>Secale cereale</i> L.	200
<i>А. Н. Буланов, Е. А. Андреева, Н. В. Цветкова, П. А. Зыкин, А. В. Войлоков</i>	
Расширение генетического разнообразия селекционного генофонда картофеля с использованием методов клеточной и хромосомной инженерии	201
<i>Т. А. Гавриленко, Г. И. Пендинен, О. Ю. Антонова, Т. О. Макарова, Р. Тиме</i>	
Аллельный состав генов, ассоциированных с хлебопекарными качествами, у сортов мягкой пшеницы Предуральской степной зоны	202
<i>А. А. Галимова, Б. Р. Кулуев</i>	
Маркер-контролируемое получение и анализ антиоксидантной активности голозерных гибридов фиолетовозерной твердой пшеницы (<i>Triticum durum</i> Desf.) с полбой (<i>Triticum dicoccum</i> Schrank.)	203
<i>Е. И. Гордеева, О. Ю. Шоева, К. А. Молобекова</i>	
Создание целевых признаковых коллекций генетических ресурсов сельскохозяйственных растений и их использование в селекции	204
<i>С. И. Гриб, И. С. Матыс</i>	
Создание и использование рекомбинантных синтетических форм для расширения генетического разнообразия мягкой пшеницы на основе генофонда диких сородичей	205
<i>Р. О. Давоян, И. В. Бебякина, Э. Р. Давоян, В. А. Бибишев, А. С. Зинченко, Ю. С. Зубанова, Д. М. Болдаков, В. И. Басов, А. А. Кресамова, Е. Д. Бадаева, Е. А. Салина</i>	
Изучение интрогрессивных линий мягкой пшеницы с применением ДНК-маркеров	206
<i>Э. Р. Давоян, И. В. Бебякина, Р. О. Давоян, Д. М. Болдаков, Ю. С. Зубанова, А. Н. Зинченко, В. И. Басов, А. А. Кресамова</i>	
Функциональный анализ роли ключевых генов морфогенеза корневой системы с использованием современных технологий генетического редактирования CRISPR-Cas	207
<i>К. Н. Демченко, А. С. Кирюшкин, Е. Л. Ильина</i>	



Прикладные геномные технологии в моделировании основных агрономических свойств у зерновых	208
<i>М. Г. Дивашук</i>	
Теоретические и практические аспекты цитоплазматической мужской стерильности овощных культур	209
<i>А. С. Домблides, Е. А. Домблides</i>	
Генотипирование и поиск ДНК-маркеров стрессоустойчивости мягкой пшеницы Предуральской степной зоны	210
<i>Е. А. Заикина, Б. Р. Кулуев</i>	
Направленная модификация гена <i>HvMusc2</i> , связанного с голубой окраской зерна ячменя	211
<i>Т. Е. Зыкова, А. А. Егорова, О. Ю. Шоева, К. Хертц, С. В. Герасимова, И. Коэппель, Ш. Хикель, А. М. Короткова, Й. Кумлен, Е. К. Хлесткина</i>	
Защитные ответы растения, индуцируемые внешней обработкой листьев антивирусной двухпочечной РНК	212
<i>Н. О. Калинина, В. О. Самарская, Н. А. Спеченкова, И. Ю. Ильина, М. Э. Тальянский</i>	
Качество зерна мягкой (<i>T. aestivum</i> L.) и твердой (<i>T. durum</i> Desf.) пшеницы в различных экологических условиях	213
<i>И. Н. Леонова, П. Н. Мальчиков, А. А. Киселева, О. А. Орловская, В. В. Пискарев, Е. А. Салина</i>	
Редактирование генома тритикале с использованием технологии CRISPR/Cas9	214
<i>Д. Н. Мирошниченко, В. Р. Тимурбаев, М. Г. Дивашук, А. С. Пушин, П. Ю. Крупин, М. Самарина, А. Ермолаев, Г. И. Карлов, С. В. Долгов</i>	
Поиск локусов, ассоциированных с продолжительностью вегетационного периода сои в условиях Центральной России и Западной Сибири	215
<i>Р. Н. Перфильев, Д. А. Потапов, К. В. Максименко, С. В. Кирюхин, С. О. Гуринович, В. И. Панарина, Р. И. Полюдина, Е. А. Салина</i>	
Эволюция принципов и методов селекции озимой ржи	216
<i>М. Л. Пономарева, С. Н. Пономарев</i>	
Генетические детерминанты узорчатой древесины карельской березы (<i>Betula pendula</i> var. <i>carelica</i>)	217
<i>Е. К. Потокина, А. В. Жигунов, Л. В. Ветчинникова, Д. С. Каржаев, Р. Ф. Губаев, Е. А. Григорьева, В. А. Волков</i>	
Разработка набора SSR-маркеров для генетической паспортизации яровой мягкой пшеницы	218
<i>М. А. Самарина, Д. С. Ульянов, А. С. Ермолаев, П. Ю. Крупин, С. И. Воронов, Н. В. Давыдова, Г. И. Карлов, М. Г. Дивашук</i>	
Адаптация трансгенных растений-иммуномодуляторов для применения в животноводстве	219
<i>В. Д. Тимониц, М. С. Бурлаковский, К. П. Чернов, Е. С. Окулова, Д. Р. Азгуллина, Л. А. Лутова, М. В. Падкина</i>	
Биохакинг короткостебельности: гены <i>GRF</i> как инструмент увеличения урожайности сортов «Зелёной революции»	220
<i>А. Г. Черноок, М. С. Баженов, А. С. Ермолаев, А. Ю. Крупина, Л. А. Беспалова, П. Ю. Крупин, М. Г. Дивашук</i>	
Генотипированная коллекция яровой мягкой пшеницы и маркер-ориентированная селекция в условиях Западной Сибири	221
<i>В. П. Шаманин, С. С. Шепелев, А. С. Чурсин, И. В. Потоцкая, О. Г. Кузьмин, Е. И. Гордеева, В. Е. Пожжерукова, С. А. Ессе, О. Г. Вернер, А. О. Яковлева, А. И. Моргунов</i>	



Поиск мишеней среди LRR-RLKIII для создания растений семейства <i>Solanaceae</i> , устойчивых к пектобактериозам	222
<i>Е. В. Шруб, П. В. Вычик, А. В. Колубако, О. А. Бадалян, Е. А. Николайчик</i>	
Геномное редактирование и РНК-интерференция – эффективные инструменты для улучшения питательной ценности зернового сорго	223
<i>Л. А. Эльконин, Г. А. Герашенков, Н. В. Борисенко, С. Х. Сарсенова, В. М. Панин</i>	
Коллекция линий кукурузы с наследуемым и ненаследуемым типами партеногенеза	224
<i>О. И. Юдакова, Н. В. Апанасова, О. В. Гуторова, О. Л. Госенова, Ю. В. Смолькина</i>	

Симпозиум 11: Мутации, рекомбинация, репарация Symposium 11: Mutations, DNA Repair and Recombination

Конформационно-специфические взаимодействия в основе регуляции рекомбинационных комплексов RecA белком RecX	226
<i>А. А. Алексеев, Н. Е. Морозова, В. А. Винник, Г. Е. Побегалов, М. А. Ходорковский</i>	
Влияние инактивации генов, ответственных за динамику хроматина на индуцированный мутагенез у дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	227
<i>Е. А. Алексеева, Т. А. Евстюхина, И. И. Скобелева, В. Т. Пешехонов, И. В. Бахланова, В. Г. Королев</i>	
Взаимосвязь механизмов изменения генома и протеома у дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	228
<i>Ю. В. Андрейчук, Е. И. Степченкова, С. П. Задорский, А. С. Жук, Е. Р. Тараховская, С. Г. Инге-Вечтомов</i>	
Изменение стабильности генома костного мозга и клеток ЦНС самцов мышей СВА в ответ на иммобилизацию и феромональный стрессор	229
<i>Б. В. Бакулевский, К. Р. Давыдова, В. Д. Щербина, Е. В. Даев</i>	
Особенности мейотической рекомбинации у четырех видов вьюрков	230
<i>Е. О. Гришко, А. А. Котельников, Л. П. Малиновская, А. Слободчикова</i>	
Роль конформационной подстройки фермент-субстратного комплекса в механизме контроля субстратной специфичности ДНК-диоксигеназы человека АВН2	231
<i>А. Т. Давлетгильдеева, Т. Е. Тюгашев, М. Джао, Н. А. Кузнецов, А. А. Кузнецова</i>	
Неканонические функции ДНК-гликозилаз	232
<i>Д. О. Жарков</i>	
Репаративная сборка хроматина и ее роль в регуляции мутационного процесса у дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	233
<i>В. Г. Королев, Е. А. Алексеева, Т. А. Евстюхина</i>	
Оценка влияния гомологичной рекомбинации на мутагенную активность цитозиндезаминаз семейства AID/APOBEC	234
<i>Е. В. Кравцова, А. В. Царегородцева, Е. И. Степченкова</i>	
Особенности взаимодействия белков систем эксцизионной репарации ДНК с G-богатым фрагментом промоторной области гена обратной транскриптазы теломеразы	235
<i>Е. А. Кубарева, В. Ю. Савицкая, В. Г. Сныга, Е. А. Дятлова, М. В. Монахова, Н. Г. Долинная, Д. О. Жарков, М. Э. Зверева</i>	
Место и роль клеточно-популяционных механизмов поддержания генетической стабильности в системе генетического гомеостаза	236
<i>С. М. Кузин</i>	



Влияние природных полиморфных вариантов ферментов эксцизионной репарации оснований ДНК на эффективность удаления повреждений	237
<i>Н. А. Кузнецов</i>	
Роль ДНК-лигаз человека в обеспечении точности и эффективности процесса эксцизионной репарации оснований ДНК	238
<i>Н. А. Моор, И. А. Васильева, О. И. Лаврик</i>	
Роль РНК-связывающего белка YB-1 в регуляции активности поли(ADP-рибоза)полимеразы 1	239
<i>К. Н. Науменко, М. В. Суханова, О. И. Лаврик</i>	
Митотическая нестабильность кольцевых хромосом в условиях индуцированной плюрипотентности	240
<i>Т. В. Никитина, М. М. Гридина, А. А. Кашеварова, Т. В. Карамышева, А. Р. Нурисламов, Ю. М. Минина, А. Г. Мензоров, А. А. Хабарова, Ю. С. Яковлева, П. С. Зубченко, Н. Б. Рубцов, О. Л. Серов, И. Н. Лебедев</i>	
Влияние модуляции биосинтеза NAD на поддержание стабильности генома в клетках человека в условиях генотоксического стресса	241
<i>М. П. Светлова, Л. В. Соловьева, В. А. Куликова, А. А. Никифоров</i>	
Роль некаталитических доменов ДНК-полимеразы λ во взаимодействии с регуляторными белками репарации	242
<i>Н. И. Речкунова, Е. А. Мальцева, Н. А. Лебедева, О. И. Лаврик</i>	
Окислительный стресс и дестабилизация генома <i>Rhodococcus erythropolis</i> под воздействием углеводородных субстратов	243
<i>И. С. Сазыкин, А. Р. Лицевич, Л. Е. Хмелевцова, Е. Р. Чернышенко, М. А. Сазыкина</i>	
Анализ мутаций генов гиногенеза и <i>FIE</i> у кукурузы	244
<i>М. И. Чумаков</i>	
Изучение влияния состояния хроматина на мутагенную активность цитидиндезаминаза семейства AID/APOBEC на модели дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	245
<i>А. Е. Шипунова, И. В. Зотова, Е. И. Степченкова</i>	

Симпозиум 12: Генетика надорганизменных систем Symposium 12: Genetics of Supraorganismal Systems

Согласование разнообразий в растительно-микробных системах	247
<i>Е. Е. Андронов, А. А. Иголкина, А. О. Зверев, Е. П. Чижевская, Н. А. Проворов</i>	
Влияние эндосимбиотической бактерии <i>Wolbachia</i> на дифференциальную экспрессию генов, метаболизм и поведение <i>Drosophila melanogaster</i>	248
<i>Н. Е. Грунтенко, М. А. Дерюженко, О. В. Андреевкова, О. Д. Шишкина, Е. К. Карпова, Е. В. Бурдина, М. А. Бобровских, Л. П. Захаренко, Г. В. Васильев, Н. В. Шацкая</i>	
Регуляция иммунного ответа у бобовых растений при развитии эффективного внутриклеточного симбиоза с ризобиями	249
<i>Е. А. Долгих, А. М. Дымо, О. А. Павлова, Н. В. Козлов, А. А. Шалякина, Е. А. Сальникова</i>	
Молекулярно-генетические основы симбиотической отзывчивости гороха посевного (<i>Pisum sativum</i> L.)	250
<i>В. А. Жуков, Е. А. Зорин, А. С. Сулима, Н. О. Ерофеева, Н. В. Фролова, А. И. Жернаков, Д. О. Кузьмина, В. А. Ракова, Е. А. Алексеева, М. Л. Гордон, А. В. Соболева, Е. М. Лукашева, С. А. Силинская, К. В. Данько, М. А. Черевацкая, Д. А. Романюк, М. С. Ключкова, Г. А. Ахтемова, О. А. Кулаева, А. А. Орлова, Т. Е. Билова, А. А. Фролов, О. Ю. Штарк, И. А. Тихонович</i>	



Биопрепараты комплексного действия в рамках биологизированной системы земледелия для управления почвенным плодородием и эффективной отдачи пашни	251
<i>Р. П. Ибатуллина</i>	
Системный контроль развития симбиотических клубеньков на корнях бобовых растений с участием регуляторных пептидов CLE	252
<i>М. А. Лебедева</i>	
Исследование защитных реакций в корнях люцерны <i>Medicago truncatula</i> при подавлении симбиоза с ризобиями вследствие сверхэкспрессии гена <i>MtCLE35</i> – системного ингибитора развития симбиотических клубеньков	253
<i>В. А. Петренко, И. А. Ерофеев, М. А. Лебедева, Л. А. Лутова</i>	
Молекулярно-генетические, экологические и эволюционные аспекты формирования аксессуарной части пангенома клубеньковых бактерий	254
<i>М. Л. Румянцева, М. Е. Владимирова, В. С. Мунтян</i>	
Динамика тубулинового цитоскелета в клетках клубеньков бобовых растений как основа их дифференцировки для размещения временных органелл – симбиосом	255
<i>В. Е. Цыганов, А. Б. Китаева, П. Г. Кусакин, А. П. А. П. Горшков, Е. А. Киричек, А. В. Цыганова</i>	
Видовая изменчивость компонентов симбиотического интерфейса в клубеньках Бобовых	256
<i>А. В. Цыганова, Е. В. Селиверстова, В. Е. Цыганов</i>	
Анализ адаптационно-значимого для хозяина штамма <i>wMelPlus</i> эндосимбиотической бактерии <i>Wolbachia</i> и его влияния на транскриптом <i>Drosophila melanogaster</i>	257
<i>О. Д. Шишкина, М. А. Дерюженко, О. В. Андреевкова, М. А. Бобровских, Н. В. Шацкая, Г. В. Васильев, А. И. Клименко, А. Е. Коренская, Н. Е. Грунтенко</i>	
Влияние гриба <i>Rhizophagus irregularis</i> на транскриптом <i>Medicago lupulina</i> : механизмы симбиотической эффективности арбускулярной микоризы	258
<i>А. П. Юрков, А. А. Крюков, А. О. Горбунова, Т. Р. Кудряшова, А. И. Ковальчук, А. И. Горенкова, М. Ф. Шишова</i>	
Влияние растительных субстратов и целлюлозолитической ассоциации на таксономическое разнообразие микробиома чернозема южного	259
<i>А. И. Якубовская, И. А. Каменева, А. Ю. Езовцева, С. Ф. Абдурашитов, М. В. Гритчин, И. И. Смирнова</i>	

Симпозиум 13: Направленное изменение генетической информации

Symposium 13: Directed Change of Genetic Information

Создание генетически модифицированных животных-продуцентов фармакологических субстанций, моделей нейро-мышечных, инфекционных заболеваний и персонализированные подходы для доклинических исследований	261
<i>А. В. Дейкин</i>	
Изменение времени колошения мягкой пшеницы с помощью геномного редактирования – роль сайтов связывания транскрипционных факторов СНЕ в промоторной области генов <i>PPD-1</i>	262
<i>А. А. Киселёва, Е. М. Тимонова, А. А. Бережная, А. Э. Коложвари, В. Н. Кельбин, А. В. Кочетов, Е. А. Салина</i>	
CRISPR-Cas9 редактирование растений сем. Solanaceae: ожидаемые и неожиданные эффекты	263
<i>Е. З. Кочиева</i>	



Создание генетически отредактированных растений <i>Triticum aestivum</i> L. с нокаутом генов <i>MLO</i> , <i>Lpx1</i> , <i>Cer9</i> , <i>CKX1</i> и <i>rht-1</i>	264
Б. Р. Кулуев, Е. В. Михайлова, А. А. Галимова, И. Ф. Рахматуллина, Х. Г. Мусин, Э. А. Баймухаметова, А. Р. Кулуев, Е. А. Заикина, З. А. Ибрагимова	
Природные ГМО: новые факты и обобщения	265
Т. В. Матвеева	
CRISPR/Cas9-редактирование гена <i>GEX2</i> в протопластах кукурузы с использованием рибонуклеопротеидных комплексов	266
Е. М. Моисеева, В. В. Фадеев, Ю. В. Фадеева, М. И. Чумаков	
Использование генов-регуляторов регенерации в биотехнологии и генной инженерии растений	267
В. Е. Творогова, А. М. Артемюк, А. В. Брынчикова, Т. В. Дюбенко, З. С. Константинов, Д. Б. Павлова, Э. А. Поценковская, В. Ю. Симонова, К. В. Смирнов, Д. В. Яковлева, Л. А. Лутова	
Эффективный способ трансформации ячменя с применением генов <i>GRF4-GIF1</i> , кодирующих регуляторы развития, для работ по редактированию генома возделываемых сортов	268
Е. М. Тимонова, А. А. Киселева, А. А. Бережная, М. А. Нестеров, А. М. Короткова, В. Н. Кельбин, А. В. Кочетов, Е. А. Салина	
«Золотой стандарт» сотрудничества по геномному редактированию сельскохозяйственных растений — основные условия и примеры реализации	269
Е. К. Хлесткина	
Использование системы CRISPR/Cas9 для получения гуманизированных животных	270
М. В. Шепелев	

Симпозиум 14: Дифференцировка и стволовые клетки Symposium 14: Stem Cells and Differentiation

Моделирование рестриктивной кардиомиопатии с использованием ИПСК человека	272
Д. В. Голусова, М. Ю. Шарикова, К. А. Лаврентьева, Е. В. Емец, О. С. Лебедева, А. Н. Богомазова, М. А. Лагарькова	
Ростовые свойства культур хондроцитов различного генеза	273
П. А. Голубинская, А. С. Пикина, Е. С. Ручко, А. В. Еремеев	
2D- и 3D-культуры эпителиальных клеток респираторного тракта из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациентов с муковисцидозом	274
А. Г. Демченко, Е. В. Кондратьева, М. В. Балясин, В. Ю. Табаков, Е. Л. Амелина, А. В. Лавров, С. А. Смирнихина	
Современные клеточные модели старения человека	275
А. И. Калмыкова, В. К. Абдыев, А. Л. Кунгурцева, А. В. Витебская	
Нейрональные гены <i>PRKN</i> и <i>ANKS1B</i> расположены в ломких сайтах хромосом в индуцированных плюрипотентных стволовых клетках человека	276
А. В. Кислова, Д. Г. Жегло, В. О. Пожитнова, Ф. С. Свиридов, Е. С. Воронина	
Увеличение количества теломерной ДНК в клетках костного мозга, обработанных фрагментированной депротенизированной ДНК человека (hDNAgr)	277
С. Г. Ошихмина, В. С. Рузанова	
Переход эмбриональных стволовых клеток мыши в праймированное плюрипотентное состояние сопряжен с активацией экспрессии иммунопротеасом	278
У. И. Поденкова, А. С. Цимоха, Е. И. Бахмет	



Гетерогенность ретиального пигментного эпителия глаза млекопитающих и человека. В поисках стволовой клетки	279
<i>Л. А. Ржанова, Ю. В. Маркитантова, М. А. Александрова</i>	
Экспериментальное подтверждение основных положений концепции природной реконструкции генома на модели гемопоэтических стволовых клеток	280
<i>В. С. Рузанова, С. Г. Ошихмина</i>	
Нокаут и делеция гена <i>UBE2A</i> приводят к нарушению Rho-ROCK сигнального пути и повышению клеточной подвижности нейральных клеток, дифференцированных из ИПСК	281
<i>А. В. Сурдина, А. В. Федоренко, Е. А. Хомякова, Е. К. Секретова, Т. В. Лиманская, И. П. Смирнов, И. Н. Лебедев, М. А. Лагарькова, А. Н. Богомазова</i>	
Генетические подходы в изучении и практическом применении плюрипотентных стволовых клеток	282
<i>А. Н. Томилин</i>	
Использование технологии церебральных органоидов в изучении неврологических заболеваний человека	283
<i>Т. А. Шнайдер, А. М. Юнусова, А. С. Чвилёва, С. А. Яковлева, М. А. Дымова, А. В. Смирнов, И. Е. Пристяжнюк, Е. В. Кулигина, В. А. Рихтер, О. Л. Серов</i>	

Симпозиум 15: Проблемы селекции растений следующего поколения Symposium 15: Problems of Next Generation Plant Breeding

Генетические основы селекции овощных пасленовых культур на повышение антиоксидантных свойств плодов	285
<i>О. Г. Бабак, Е. В. Дрозд, Н. А. Некрашевич, Н. В. Анисимова, К. К. Яцевич, И. Г. Пугачева, И. Е. Баева, Т. В. Никонович, М. М. Добродькин, А. В. Кильчевский</i>	
Особенности передачи чужеродной хромосомы хлопчатника от вида <i>G. barbadense</i> L. к виду <i>G. hirsutum</i> L. в беккроссном поколении BC4F1	286
<i>Ш. У. Бобохужаев, М. Ф. Санамьян, Ш. С. Абдукаримов</i>	
Влияние патогенов на мезо- и ультраструктуру листьев картофеля	287
<i>Е. С. Богданова, А. Л. Бакунов, Н. А. Саблина, Д. М. Ульянова, В. Н. Нестеров, О. А. Розенцвейт</i>	
Коллекция генетических ресурсов зернобобовых ВИР как объект молекулярно-генетических исследований	288
<i>М. А. Вишнякова</i>	
Селекция риса на повышение продуктивности и устойчивости к стрессовым факторам среды	289
<i>Г. Л. Зеленский, Е. Ю. Гненный, М. А. Ткаченко</i>	
Использование отдаленной гибридизации для биофортификации пшеницы цинком в условиях его дефицита	290
<i>Н. М. Казнина, Н. И. Дубовец, Н. С. Репкина, О. А. Орловская, Ю. В. Батова, А. А. Игнатенко</i>	
Селективные среды и удвоенные гаплоиды, или как в трех чашках Петри создать качественный материал для работы селекционера на годы вперед	291
<i>Е. В. Козарь, Е. А. Домблides</i>	
Маркёр-ориентированная селекция плёнчатых и голозёрных линий ячменя с повышенным содержанием антоцианов в зерне	292
<i>Т. В. Кукоева, К. А. Молобекова, О. Ю. Шоева, Е. К. Хлёткина</i>	



Широкое распространение сортов яровой твердой пшеницы Саратовской селекции в (другие регионы возделывания) в связи с изменением климата	293
<i>И. В. Милованов, С. Н. Гапонов, Г. И. Шутарева, Н. М. Цетва, И. С. Цетва, Н. А. Бурмистров, Е. С. Жиганова, Н. С. Соловова</i>	
Влияние метеорологических условий на формирование хозяйственно-ценных признаков яровой пшеницы в условиях ЦРНЗ	294
<i>Б. Б. Наджодов, В. В. Пыльнев, В. С. Рубец, И. Н. Ворончихина</i>	
Селекция томата (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) на урожайность, устойчивость к болезням и качество продукции для открытого грунта в Беларуси	295
<i>И. Г. Пугачёва, А. В. Французёнок, И. Е. Баева, М. М. Добродькин, Н. А. Некрашевич, Е. В. Дрозд, О. Г. Бабак, А. В. Кильчевский</i>	
Селекционная ценность генетических интрогрессий от родственных видов в геноме мягкой пшеницы (<i>Triticum aestivum</i> L.), связанных с технологическими свойствами зерна и муки: достижения и перспективы	296
<i>Т. А. Пшеничникова, Л. В. Щукина, А. В. Симонов, А. Г. Клыков, С. Б. Лепехов, В. П. Шаманин, А. Бёрнер</i>	
Разнообразие образцов ячменя из восточной Азии по устойчивости к обыкновенной злаковой тле	297
<i>Е. Е. Радченко, Р. А. Абдуллаев, Д. Е. Акимова, И. Н. Анисимова</i>	
Селекция яровой твердой пшеницы на продуктивность и качество в Алтайском селекционном центре	298
<i>М. А. Розова, Е. Е. Егуазарян</i>	
Особенности интрогрессии и элиминации чужеродных хромосом у беккроссных гибридов хлопчатника	299
<i>М. Ф. Санамьян, Ш. У. Бобохужаев</i>	
Развитие нового направления селекции столовой свеклы на повышенное содержание бетанина	300
<i>Д. В. Соколова, А. М. Зарецкий, Н. А. Швачко, А. С. Михайлова, В. С. Попов, А. Е. Соловьёва</i>	
Наследование массы зерна с колоса внутривидовыми и межвидовыми гибридами карталинской пшеницы в условиях Северного Зауралья	301
<i>Г. В. Тоболова, В. И. Никитина</i>	
Селекция беспроантоцианидиновых линий ячменя пивоваренного назначения для Западно-Сибирского региона	302
<i>И. В. Тоцкий, О. Ю. Шоева</i>	
Происхождение цитоплазматической мужской стерильности РЕТ1 у подсолнечника	303
<i>А. В. Усатов, К. В. Азарин</i>	
Результаты и перспективы саратовской селекции яровой твердой пшеницы в аспекте увеличения функциональной ценности продуктов ее переработки	304
<i>И. С. Цетва, С. Н. Гапонов, Г. И. Шутарева, Н. М. Цетва, И. В. Милованов, Е. С. Жиганова, Н. С. Соловова, Н. А. Бурмистров</i>	

Симпозиум 16: Регуляция действия гена и эпигенетика
Symposium 16: Regulation of Gene Expression and Epigenetics

Идентификация и характеристика генов инвертаз у чеснока и определение их роли в ответных реакциях на абиотические стрессы	306
<i>О. К. Анисимова, М. А. Филюшин</i>	



Исследование свойств близкородственных архитектурных белков M1BP и Ranshi в геноме дрозофилы	307
Ю. В. Васильева, А. А. Федотова, И. О. Дериглазова, Н. С. Клименко, П. Г. Георгиев, О. Г. Максименко	
Эволюционные особенности структуры и экспрессия генов семейства <i>Nxf</i> (nuclear export factor) у животных	308
Е. В. Голубкова, К. В. Ахромов, А. О. Якимова, А. В. Васильев, Д. И. Пелле, Д. Д. Бондарук, Л. В. Барабанова, Л. А. Мамон	
Фактор сборки и ремоделирования хроматина <i>Chd1</i> является аттенюатором дозовой компенсации у дрозофилы	309
А. Ю. Конев, Я. А. Кучинская, А. Л. Манасян	
Роль основных транскрипционных факторов в развитии «нерегулярных» меристем	310
Л. А. Лутова, И. Е. Додуева, М. А. Лебедева	
Вклад аллополиплоидии и хромосомных перестроек в экспрессию гомеологичных генов пшеницы	311
Е. А. Салина, А. Ф. Мутерко, А. А. Киселева, О. Г. Силкова	
Особенности паттерна экспрессии гена <i>swiss cheese/PNPLA6</i>	312
С. В. Саранцева, Е. В. Рябова, Е. А. Иванова, П. А. Мелентьев, А. Е. Комиссаров	
Механизм активации гена <i>XRP1</i> P53-зависимым энхансером 75C6 у <i>Drosophila melanogaster</i>	313
Ю. В. Шидловский, А. В. Конопатов, К. Ю. Конова, М. К. Попова, Л. А. Лебедева	
Генетический контроль синтеза различных классов полифенольных соединений у ячменя (<i>Hordeum vulgare</i> L.): фундаментальные и прикладные аспекты	314
О. Ю. Шоева, К. А. Молобекова, М. О. Орбант, Н. А. Шмаков, А. А. Денисов, А. Ю. Глаголева, Т. В. Кукова, И. В. Тоцкий, Ш. Захрабекова, Д. Стюарт, М. Ханссон, Е. К. Хлесткина	

Симпозиум 17: Популяционная генетика

Symposium 17: Population Genetics

Dendrogenomics is a new interdisciplinary approach to study genetic mechanisms of adaptation and individual tree response to biotic and abiotic stresses: Siberian larch and Siberian stone pine cases	316
К. В. Krutovsky, S. V. Novikova, V. V. Sharov, N. V. Oreshkova, D. F. Zhirnova, L. V. Belokopytova	
Генетическое разнообразие ценного реликта Сибири – сибирского осетра <i>A. baerii</i> Brandt, 1869	317
А. Е. Барминцева, В. Д. Щербакова, Н. С. Мюге	
Молекулярно-генетическая идентификация популяций хвойных растений: проблемы, подходы, перспективы	318
С. В. Боронникова, Я. В. Сбоева, Н. В. Чертов, Н. В. Жуланов	
Генетическая структура популяций волка, <i>Canis lupus</i> L. 1758, Северной Евразии: выявление родственных особей и как их исключение влияет на результаты микросателлитного анализа	319
П. А. Казимиров, Ю. С. Белоконь, М. М. Белоконь, А. Я. Бондарев, А. В. Давыдов, Е. С. Захаров, С. В. Леонтьев, Д. В. Политов	
Генетическая структура нативных и интродуцированных популяций соболя (<i>Martes zibellina</i> L.) центральной части ареала	320
С. Н. Каштанов, А. А. Онохов, Ц. Вэй, П. А. Филимонов	



Генетическая структура популяций коренного и пришлого населения Сибири по данным о полиморфизме генов транспорта и рецепции витамина D	321
<i>М. Б. Лавряшина, Б. А. Тхоренко, М. В. Ульянова, Д. О. Имекина, А. Д. Падюкова, Ф. А. Лузина</i>	
Равный вклад самцов и самок в формирование генетической изменчивости и дифференциации серого журавля	322
<i>Е. А. Мудрик, Е. И. Ильяшенко, К. Д. Кондракова, Ю. М. Маркин, К. А. Постельных, А. В. Шатохина, П. А. Казимиров, Д. В. Политов</i>	
Молекулярные подходы в природоохранной генетике – как анализ ДНК помогает сохранять генетическое разнообразие	323
<i>Д. В. Политов, Е. А. Мудрик, П. А. Казимиров, Р. Г. Новикова</i>	
Изучение генетической изменчивости дальневосточного трепанга <i>Apostichopus japonicus</i> залива Петра Великого (Японское море)	324
<i>В. Д. Ягодина, В. А. Брыков</i>	

Симпозиум 19: Генетика старения, поведения и нейрогенетика
Symposium 19: Genetics of Ageing, Behavior and Neurogenetics

Downregulation of ribosomal protein genes is revealed in a model of rat hippocampal neuronal culture activation with GABA(A) receptor antagonist picrotoxin	326
<i>P. Fortygina, A. Beletskiy, A. Zolotar, E. Chesnokova, L. Uroshlev, P. Balaban, P. Kolosov</i>	
Эффекты сверхэкспрессии гена 5-HT7 рецептора в среднем мозге на поведение и нейропластичность у мышей при длительном потреблении этанола	327
<i>Д. В. Базовкина, А. С. Орешко, А. Я. Родный, В. С. Науменко</i>	
Генетический контроль обучения и памяти у <i>Drosophila melanogaster</i>	328
<i>Ю. В. Брагина, А. А. Гончарова, Н. Г. Беседина, Л. В. Даниленкова, Е. А. Камышева, Н. Г. Камышев</i>	
Нейрогенетика патологических состояний, связанных с возбудимостью нервной системы: модели на линиях крыс	329
<i>М. Б. Павлова, Н. В. Ширяева, И. Г. Шалагинова, А. Э. Вылегжанина, В. Д. Щербинина, Е. В. Даев, А. С. Левина, Н. А. Дюжикова</i>	
Alu-полиморфизм гена <i>TEAD1</i> как фактор выживаемости при долголетию	330
<i>Д. Д. Каримов, Т. Р. Насибуллин, И. А. Туктарова, Я. Р. Тимашева, В. В. Эрдман</i>	
Сопряженная изменчивость генов-кандидатов и проявлений агрессивного поведения у современных представителей армянской популяции	331
<i>О. Е. Лазебный, П. А. Прошаков, Л. А. Ревякина, А. М. Куликов</i>	
Изменение активности сигнальных путей MAPK с возрастом как общий механизм патогенеза нейродегенеративных заболеваний	332
<i>Н. А. Муралёва, Н. Г. Колосова</i>	
Роль гипоксии в реализации когнитивных функций у дрозофилы	333
<i>Е. А. Никитина, А. В. Медведева, Д. М. Каровецкая, Е. В. Савватеева-Попова</i>	
Роль гена <i>ANXA2A</i> в развитии нервной системы на модели <i>Danio rerio</i>	334
<i>С. А. Партевян, Д. Р. Сафина, М. М. Руденок, М. И. Шадрин, П. А. Сломинский, С. В. Костров, А. Х. Алиева</i>	
Селекция лабораторных мышей на успешное решение когнитивного теста и на отсутствие решения. Сравнение поколений селекции	335
<i>И. И. Полетаева, О. В. Перепелкина</i>	



Митохондрия как генетический хаб: траектория развития идеи	336
<i>Е. В. Празднова, В. А. Чистяков</i>	
Геропротекторный и радиопротекторный потенциал генетических и фармакологических воздействий на биогенез микроРНК на модели <i>Drosophila melanogaster</i>	337
<i>Е. Н. Прошкина, Н. Р. Пакина, Н. С. Уляшева, М. В. Шапошников, А. А. Москалев</i>	
Транскрипционные биомаркеры ранних стадий болезни Паркинсона	338
<i>М. М. Руденок, Е. И. Семенова, Е. Ю. Федотова, А. В. Карабанов, А. В. Росинская, О. Б. Доронина, К. С. Доронина, С. Н. Иллариошкин, П. А. Сломинский, М. И. Шадрина, А. Х. Алиева</i>	
Криптохром (cry) – универсальный и единый преобразователь света, температуры, гипоксии и магнитного поля Земли в успешность обучения и памяти	339
<i>Е. В. Савватеева-Попова, Д. М. Каровецкая, Е. В. Токмачева, Б. Ф. Щеголев</i>	
Изменение экспрессии генов, ассоциированных с гистаминергической системой, в тканях мозга молодых и взрослых мышей при моделировании ранней симптомной стадии болезни Паркинсона	340
<i>Е. И. Семенова, М. М. Руденок, И. Н. Рыболовлев, М. В. Шульская, М. В. Лукашевич, С. А. Партевян, П. А. Сломинский, М. И. Шадрина, А. Х. Алиева</i>	

Симпозиум 20: Селекция и биотехнология микроорганизмов
Symposium 20: Biotechnology and Breeding of Microorganisms

Программный конвейер для сборки и аннотации бактериальных геномов	342
<i>К. С. Антонец, А. Е. Шиков, М. А. Нестеренко, М. Н. Романенко, А. А. Нижников</i>	
Зависимость антистрессовых эффектов ризобактерий от генотипа растения и корневой экссудации	343
<i>А. А. Белимов, А. И. Шапошников, Т. С. Азарова, В. Ю. Шахназарова, Н. А. Вишневецкая, Э. А. Сексте, М. И. Лебединский, А. А. Бутин, О. С. Юзихин, В. И. Сафронова, И. А. Тихонович</i>	
Инженерия <i>Mycolicibacterium smegmatis</i> для продукции прогестерона	344
<i>А. А. Бяков, М. В. Карпов, Н. И. Стрижов, А. А. Шутов, М. В. Донова</i>	
Консорциумы для биологической защиты растений	345
<i>Ш. З. Валидов, Е. Ю. Шульга, Б. Р. Исламов, М. Д. Фролов, А. Ю. Суханов, Р. Ж. К. Диабанкана</i>	
Изменение метаболических характеристик винных дрожжей с помощью геномного редактирования	346
<i>Е. А. Васягин, А. Л. Ракитин, Е. С. Марданова, А. В. Белецкий, М. Ю. Шаламитский, Т. Н. Танащук, В. Н. Ураков, В. В. Куширов, Н. В. Равин, А. В. Марданов</i>	
Разработка нового подхода активации мобильных элементов с использованием VIGS	347
<i>А. В. Власова, Е. Д. Камараули, Д. В. Первозчиков, И. В. Киров,</i>	
Системы гипер-продукции белков в промышленно-значимых микроорганизмах	348
<i>К. В. Лавров, А. Д. Новиков, А. О. Шемякина, Е. Г. Гречишникова, А. С. Яненко</i>	
Исследование механизмов транспорта гидроксиаминокислот и аминокислот с разветвленным радикалом через цитоплазматическую мембрану <i>Escherichia coli</i> K-12	349
<i>А. А. Хозов, Д. М. Бубнов, Т. В. Выборная, А. А. Степанова, О. Е. Мелькина, С. В. Молев, А. А. Привалова, А. И. Нетрусов, С. П. Синецкий</i>	

Круглый стол 1: Этические, правовые и социальные аспекты генетических и геномных исследований



Round Table 1: Ethical, Legal and Social Aspects of Genetic and Genomic Research

Информированность научного сообщества о правовом и этическом регулировании геномных исследований, представления о необходимости такого регулирования и результаты опроса участников VII съезда ВОГиС	351
<i>С. А. Боринская</i>	
Этические проблемы диагностики и терапии наследственных болезней	352
<i>В. Л. Ижевская</i>	
Правовые аспекты применения генетических технологий в природоохранной деятельности	353
<i>Р. Г. Новикова</i>	
Биоэтическая диагностика, оценка и купирование социальных рисков геномных биомедицинских исследований	354
<i>П. Д. Тищенко</i>	

Круглый стол 2: Вопросы генетического, биотехнологического и селекционного образования в Российской Федерации

Round Table: Issues of Genetic, Biotechnological and Breeding Education in the Russian Federation

Сотрудничество кафедр генетики МГУ и СПбГУ: опыт и перспективы	356
<i>И. С. Бузовкина, Л. Н. Нефедова, Е. И. Розаев, А. А. Нижников</i>	
Непрерывная подготовка кадров в области селекции – путь к сохранению селекционных школ	357
<i>Е. В. Журавлева</i>	
Преподавание генетики в школе. Современные подходы	358
<i>Е. В. Самбук, А. М. Румянцев, Е. М. Чекунова</i>	
Необходимость усиления роли генетической логики в современном преподавании генетики	359
<i>О. Н. Тиходеев</i>	

Круглый стол 3: История генетики

Round Table 3: The History of Genetics

Н. И. Вавилов. Экспедиция на Кавказ и в Закавказье в 1934 г. Новые источники	361
<i>Т. Б. Авруцкая</i>	
«...Забвения хромосом нам не нужно...» О двух малоизвестных докладах Г. Д. Карпеченко	362
<i>М. А. Вишнякова</i>	
История ВНИИСХМ в годы Великой Отечественной войны	363
<i>М. Л. Гордон</i>	
Хронологическая точка отсчета российской генетики	364
<i>А. И. Ермолаев</i>	
Н. И. Вавилов на Брянской земле. Великокняжеское имение Брасово – место памяти учёного	365
<i>Г. И. Ерофеева</i>	
О генетике и генетиках в дневнике Ф. Г. Добржанского	366
<i>М. Б. Конашев</i>	



Глазами молодых: наука в годы Великой Отечественной войны в проекте аспирантов ВИР имени Н. И. Вавилова «Марафон Победы»	367
<i>Т. В. Семилет, А. А. Ленишин</i>	

III Форум «Генетические ресурсы России» The 3rd Forum “Russian Genetic Resources”

Ботанические коллекции: что надо и что не надо регулировать	369
<i>Д. В. Гельтман</i>	
Биобанкирование как инструмент для профилактики, диагностики и лечения генетических заболеваний	370
<i>А. С. Глотов</i>	
Российская коллекция типовых клеточных культур: настоящее и будущее	371
<i>Н. А. Михайлова</i>	
Биоресурсные коллекции СПбГУ как пример междисциплинарных университетских коллекций	372
<i>А. А. Нижников</i>	
Коллекции генетических ресурсов растений Российской Федерации и Национальный биоресурсный центр по данному профилю	373
<i>Е. К. Хлесткина</i>	

ТЕЗИСЫ ПОСТЕРНЫХ ДОКЛАДОВ

Симпозиум 1: Репликация, транскрипция, трансляция Symposium 1: Replication, Transcription, Translation

The Interplay of 3' UTR Length and Stop Codon Identity in Translation Dynamics	375
<i>A. Salman, E. Y. Shuvalova, N. S. Biziaev, E. Z. Alkalaeva</i>	
Влияние длины поли(А) хвоста мРНК на инициацию и терминацию трансляции эукариот	376
<i>Н. С. Бизяев, А. В. Шувалов, Т. В. Егорова, А. Салман, Е. Ю. Шувалова, Е. З. Алкалаева</i>	
Содержание мРНК генов, кодирующих метаболические и цитоскелетные белки в яичниках мыши после 96-часового моделирования эффектов невесомости	377
<i>Н. С. Бирюков, Е. Ю. Горбачева, И. В. Огнева</i>	
Клинический вариант праймазы-полимеразы PrimPol человека V102A с нарушенной каталитической активностью	378
<i>Е. О. Болдинова, А. Г. Барановский, Ю. В. Филина, Р. Р. Мифтахова, Я. Ф. Шамсутдинова, Т. Тагиров, А. В. Макарова</i>	
Использование метода VIGS для создания эпигеномных изменений на примере <i>N. benthamiana</i>	379
<i>А. А. Болотина, А. В. Власова, И. В. Киров</i>	
Амилоид FXR1 – компонент нейрональных стресс-гранул	380
<i>А. А. Валина, А. П. Галкин</i>	
Анализ влияния мутаций в генах SUP35 и SUP45 на количественное соотношение белков в клетках дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	381
<i>Л. Г. Данилов, С. Е. Москаленко, Е. М. Максютенко, Г. А. Журавлева</i>	



Анализ эффекта генов, регулирующих механизмы индукции воспаления, на базовые когнитивные функции	382
<i>Р. Ф. Еникеева, А. В. Казанцева, Ю. Д. Давыдова, Р. Н. Мустафин, З. Р. Тахирова, М. М. Лобаскова, С. А. Мирза, Э. М. Фатхулина, С. Б. Малых, Э. К. Хуснутдинова</i>	
Изучение жизнеспособности дрожжей у мутантов по генам <i>SUP45</i> и <i>SUP35</i>	383
<i>О. М. Землянко, Е. П. Ефремова, А. А. Кадысева, С. Е. Москаленко, Г. А. Журавлева</i>	
Возможный механизм 8-охоА-индуцированного мутагенеза	384
<i>А. А. Кручинин, П. Н. Камзеева, Е. О. Болдинова, А. В. Аралов, А. В. Макарова</i>	
Кинетические особенности взаимодействия РНКазы H1 с модельными R-петлями различной структуры	385
<i>А. А. Кузнецова, Ю. А. Косарев, Е. С. Микушина, Д. С. Лаприна, Н. А. Тимофеева, Н. А. Кузнецов</i>	
Разработка модели, способной предсказать уровень зрелой мРНК в культивируемых клетках млекопитающих на основе последовательности DSE терминатора транскрипции	386
<i>А. Е. Летягина, А. В. Пиндюрин, Л. А. Яринич, Л. В. Болдырева, А. А. Огиенко, Ю. А. Галимова, Е. Н. Андреева, Е. С. Омелина</i>	
Новый клеточный фактор <i>Nicotiana benthamiana</i> , содержащий ДНК-связывающий домен В3, подавляет развитие тобамовирусной инфекции	387
<i>К. А. Мавренкова, Т. В. Комарова, Н. М. Ершова</i>	
Получение мутантных белков семейства EIF4E <i>Solanum tuberosum</i> , несущих аминокислотные фосфомимические замены в положениях предсказанных сайтов фосфорилирования	388
<i>М. Г. Малеев, В. В. Колесникова, О. С. Никонов, Е. Ю. Никонова</i>	
Анализ влияния мутаций в генах <i>SUP35</i> и <i>SUP45</i> на экспрессию генов	389
<i>С. Е. Москаленко, Е. М. Максютенко, Ю. А. Барбитов, А. Г. Матвеевко, Г. А. Журавлева</i>	
Изменения профилей метилирования CpG-сайтов генов <i>ELOVL2</i> , <i>FHL2</i> , <i>PDE4C</i> , <i>CBLN4</i> , <i>ZNF423</i> , ассоциированные с возрастом	390
<i>А. М. Погосян, А. Д. Золоторенко, С. А. Брускин</i>	
Регулятор LysR-семейства изгибает ДНК, некорректно позиционируя -10 и -35 боксы промотора	391
<i>И. Ю. Позднякова-Филатова, М. В. Захарова</i>	
Определение однонуклеотидных замен и числа триплетных повторов в гуанин-цитозин-богатых фрагментах генома с помощью многокомпонентных гибридационных зондов	392
<i>М. С. Рубель, П. С. Луганская, Е. С. Перепелица, Д. М. Колпацников</i>	
Изучение функций N-конца белка MSL1 в процессе работы комплекса дозовой компенсации у <i>Drosophila melanogaster</i>	393
<i>В. Е. Рыжкова, В. А. Бабоша, Е. А. Тихонова, П. Г. Георгиев, О. Г. Максименко</i>	
Сопоставление митоза и мейоза для изучения многообразия млекопитающих на примере мелких хищников	394
<i>В. М. Малыгин, Л. Д. Сафронова, Е. Г. Сергеев</i>	
Новый архитектурный белок Mzfp1 участвует в организации гетерохроматиновых промоторов и инсуляторов дрозофилы	395
<i>В. В. Соколов, О. В. Кырчанова, Н. С. Клименко, О. Г. Максименко, П. Г. Георгиев</i>	
Повышенная транскрипция теломерных повторов как фактор нестабильности генома	396
<i>О. А. Соколова, А. А. Кобеляцкая, В. В. Моргунова, А. И. Калмыкова</i>	



Неканоническая терминация транскрипции у <i>Drosophila melanogaster</i>	397
Ю. В. Солдатова, О. Г. Максименко, П. Г. Георгиев, М. В. Тихонов	
Экспрессия сплайсосомных форм длинной некодирующей РНК ANRIL при артериальной гипертензии	398
Л. В. Топчиева, В. А. Корнева, И. В. Курбатова	
Участие малой некодирующей 6S-1 РНК в регуляции биосинтеза сурфактина в клетках <i>Bacillus subtilis</i>	399
В. С. Трефилов, Е. Ю. Линдин, В. А. Лабанов, М. Г. Хренова, М. Э. Зверева, О. Ю. Буренина, Е. А. Кубарева	
Эпигенетические модификации матричного цитозина изменяют точность репаративных и транслезионных ДНК-полимераз человека	400
Е. С. Шилкин, Д. В. Петрова, А. В. Макарова, Д. О. Жарков	
Дифференциальная экспрессия некодирующих РНК в гранулезных клетках яичника человека ..	401
Т. П. Шкурят, Е. Г. Деревянчук, О. В. Лянгасова, Д. Е. Романов, Л. Липович	
Растительный препарат айлантон снижает пролиферацию опухолевых клеток, ингибируя биосинтез белка	402
Т. А. Штам, А. В. Никитина, И. И. Сорокин, Е. Б. Пичкур, Л. А. Гараева, А. Л. Коневега, С. Е. Дмитриев	
Влияние 5'-контекста стоп-кодона на эффективность терминации трансляции у эукариот	403
А. В. Шувалов, Н. С. Бизяев, Е. Э. Алкалаева	

Симпозиум 2: Экологическая генетика и генетическая токсикология Symposium 2: Ecological Genetics and Genetic Toxicology

Ecological and genetic assessment of the consequences of the impact of anthropogenic pollution on the environment and public health	405
А. В. Bigalyev, В. Bekmanov, А. N. Kozhakhmetova, А. М. Myrzatay, K. Z. Shalabayeva, А. S. Kulimbetov, L. M. Adilova	
Genetic mechanisms of mosquito-parasite interactions: insights from chromosomal rearrangements ..	406
M. K. Haidara, G. N. Artemov, V. A. Burlak, E. S. Soboleva	
Чувствительность лимфоцитов периферической крови человека к генотоксическому действию хлорпирифоса <i>in vitro</i>	407
Н. С. Аверьянова, Н. А. Илюшина, А. П. Котнова, О. В. Горенская, С. Д. Игнатъев, Ю. В. Демидова, О. В. Егорова	
Влияние личиночного стресса и инфицирования <i>Wolbachia</i> на скорость развития и приспособленность <i>Drosophila melanogaster</i>	408
Н. В. Адоньева, Е. К. Карпова, В. М. Ефимов, Н. Е. Грунтенко	
Генетическая активность экстрактов представителей рода <i>Monarda</i> на примере <i>Drosophila melanogaster</i>	409
О. Н. Антосюк, Е. В. Болотник, В. В. Костенко	
Роль унаследованных вариантов генов ферментов репарации ДНК, биотрансформации ксенобиотиков, системы антиоксидантной защиты, контроля клеточного цикла и апоптоза, трансмембранного рецептора семейства рецепторных тирозинкиназ EgrbV в формировании риска антракосиликоза у рабочих угольных шахт Кузбасса	410
М. Л. Баканова, Н. В. Елисеева, В. И. Минина, Я. А. Захарова	



Опыт преподавания курса «Экологическая генетика» на кафедре генетики и биотехнологии Санкт-Петербургского государственного университета	411
<i>Л. В. Барабанова</i>	
Хронология клонального состава популяции черемухово-злаковой тли <i>Rhopalosiphum padi</i> (L.) в период эмиграции на злаки в Ленинградской области	412
<i>А. Б. Верещагина, Е. С. Гандрабур</i>	
Влияние высоковольтных линий электропередач на воспроизводство клонов двух видов злаковых тлей	413
<i>Е. С. Гандрабур, А. Б. Верещагина</i>	
Оценка способности вируса SARS-CoV-2 индуцировать повреждения ДНК в лимфоцитах периферической крови у пациентов с COVID-19	414
<i>Н. А. Илюшина, О. В. Горенская, О. В. Егорова, А. П. Котнова, Н. С. Аверьянова</i>	
Анализ генотоксичности «оксалиплатина» на люкс-штаммах <i>E. coli</i>	415
<i>Р. Г. Гурбанов, П. М. Джамбетова</i>	
Алгоритм оценки эквивалентности пестицидов по критерию «мутагенность»	416
<i>Н. А. Илюшина, О. В. Егорова, Ю. А. Ревазова</i>	
Phytochemicals in the combat against SARS-CoV-2	417
<i>Ш. Исса, Т. В. Матвеева</i>	
Изменения в метаболизме имаго <i>D. melanogaster</i> , перенесших стресс в личиночном возрасте	418
<i>Е. К. Карпова, М. А. Бобровских, Е. В. Бурдина, В. М. Ефимов В. М., Н. Е. Грунтенко</i>	
Исследование генотоксической активности новых эфиров на основе циклоалкендикарбоновых кислот	419
<i>М. И. Ковалева, А. А. Фирстова</i>	
Применение метода ДНК-комет в эксперименте индуцированного мутагенеза	420
<i>М. Н. Курчатова</i>	
Ядрышковые характеристики буккальных эпителиоцитов и частота повреждений их митохондриальной ДНК – новые способы оценки загрязнения окружающей среды и генетического гомеостаза организма человека	421
<i>А. В. Ларина, В. Н. Калаев, Е. А. Калаева</i>	
Сравнение генотоксического действия коммерческих образцов Понсо 4R и Тартразин в культуре лимфоцитов человека в условиях цитокинетического блока	422
<i>Т. А. Никитина, М. А. Коняшкина</i>	
Влияние внеклеточных ДНК на фенотипические особенности <i>Xanthomonas campestris</i> M28	423
<i>К. Ю. Панькина, А. А. Ломакин, Р. А. Зинин, М. П. Данилова</i>	
Исследование протекторного эффекта антиоксидантов на ДНК-повреждающее действие диоксида в клетках <i>Escherichia coli</i>	424
<i>С. В. Смирнова, Е. В. Игонина, А. А. Петрачкова, С. К. Абилев</i>	
Особенности сообщества арбускулярных микоризных грибов, ассоциированных с растениями трибы Heliantheae	425
<i>С. В. Сокорнова, Д. М. Малыгин</i>	



Симпозиумы 3, 18: Биоинформатика и системная биология
Symposia 3, 18: Bioinformatics and Systems Biology

Dissecting the genetic regulatory basis of trait development in rice	427
<i>Dijun Chen</i>	
Computer-based reconstruction and analysis of gene networks using the cognitive system ANDSystem	428
<i>V. S. Venzel, P. S. Demenkov, T. V. Ivanisenko, E. A. Antropova, A. L. Makarova, A. V. Adamovskaya, N. A. Kolchanov, V. A. Ivanisenko</i>	
Вариабельность структурной организации митохондриального генома сои (<i>Glycine max</i>)	429
<i>В. В. Александрович, М. Г. Синявская, И. М. Голоенко, О. Г. Давыденко</i>	
Антифаговые системы защиты клубеньковых бактерий <i>Sinorhizobium spp.</i>	430
<i>А. П. Апрелькова, В. С. Мунтян, М. Е. Владимирова, А. Н. Мунтян, М. Л. Румянцева</i>	
Разработка вычислительного конвейера для поиска и функциональной аннотации генов семейств мультидоменных белков в геномах растений	431
<i>М. Е. Бочарникова, Д. А. Афонников</i>	
Делеции кластеров генов, участвующих в образовании биопленок, среди внутрибольничных изолятов <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	432
<i>А. В. Введенский, С. В. Бондарь, О. А. Райдару, А. В. Ильякова, А. С. Ивкина, Д. Е. Федоров, Д. Н. Конанов, Л. С. Федорова, Е. Н. Ильина</i>	
Сравнительный анализ онкогенных свойств <i>Mycoplasma hominis</i> на модели хронической инфекции эукариотической клетки	433
<i>М. А. Галямина, О. В. Побегуц, К. В. Сикамов, И. П. Смирнов, М. Е. Богомякова, А. Ю. Горбачев</i>	
<i>In silico</i> выявление перспективных для изучения R-генов среди примитивных культурных видов картофеля	434
<i>А. А. Гурина</i>	
Биоинформатический анализ генов и белков с эндонуклеазной активностью <i>Xanthomonas campestris</i>	435
<i>М. П. Данилова, К. Ю. Панькина, В. А. Трофимов</i>	
Поиск мишеней и ко-регуляторов транскрипционного фактора IPD3/CYCLOPS гороха посевного <i>Pisum sativum</i> L.	436
<i>А. В. Долгих, А. М. Дымо, Е. С. Канцурова, Е. А. Долгих</i>	
Разработка молекулярных маркеров на основе результатов GWAS для селекции твердой пшеницы	437
<i>А. С. Ермолаев, В. А. Коробкова, Л. А. Беспалова, А. А. Мудрова, А. С. Яновский, А. Д. Воропаева, Г. И. Карлов, М. Г. Дивашук</i>	
Метаанализ профилей дифференциальной экспрессии генов: к вопросу о выборе данных	438
<i>А. В. Тяпкин, В. В. Лавреха, Н. А. Омелянчук, Е. В. Землянская</i>	
Pike: инструмент для анализа «шумных» метагеномных прочтений	439
<i>Д. В. Кривонос, Д. Е. Федоров, Д. Н. Конанов, А. В. Введенский, Е. В. Корнеенко, А. С. Сперанская, Е. Н. Ильина</i>	



Оценка направления отбора гена <i>rbcL</i> у некоторых представителей подсемейства Мятликовые (<i>Pooideae</i>)	440
А. В. Кусакин, А. В. Родионов, И. Г. Лоскутов	
Объемная адаптация <i>Mycoplasma gallisepticum</i> к осмотическому стрессу	441
А. А. Лазарева, Д. С. Матюшкина, С. В. Сизова, В. М. Говорун	
Изучение пептидного иммунного сигналинга растений на примере мха	442
И. С. Ляпина, Д. Р. Ганаева, Д. Ю. Рязанцев, Е. А. Рогожин, И. А. Фесенко	
Вариация клеточного объема – механизм ответа бактерий на стресс	443
Д. С. Матюшкина, А. А. Лазарева, Е. А. Васильева, П. В. Башкиров, Т. С. Сапега, О. Л. Макарикова, И. О. Бутенко, В. М. Говорун	
Создание линий растений <i>A. thaliana</i> с повышенной копийностью мобильных элементов как ресурса для функциональной геномики и мобиломики	444
П. Ю. Меркулов, М. А. Серганова, Г. А. Петров, И. В. Киров	
Путь Эшвелла как ключевое звено в формировании вирулентного фенотипа адгезивно-инвазивной <i>Escherichia coli</i>	445
О. В. Побегуц, М. А. Галямина, А. С. Авшалумов, Д. Р. Уразаева, М. В. Михайлычева, С. И. Ковальчук, И. П. Смирнов, Д. А. Широков, В. В. Бабенко, А. Ю. Горбачев	
Идентификация новой системы сборки архейных и бактериальных фимбрий	446
М. Г. Пятибратов, М. Ю. Топилина, А. С. Сюткин, А. В. Галева, С. Ю. Щеголев	
Визуализация митохондриальных геномов с различным порядком генов на примере видов отряда <i>Amphipoda</i> (<i>Crustacea</i>)	447
Е. В. Романова, Ю. С. Букин, Д. Ю. Щербаков	
Реконструкция регулонной структуры <i>Methylotuvimicrobium alcaliphilum</i> 20ZR на основе массового анализа транскриптомных данных	448
Т. С. Соколова, С. К. Колмыков, М. А. Куляшов, Р. Гамильтон, Т. М. Хлебодарова, М. Г. Калюжная, И. Р. Акбердин	
Мобилом кишечника человека как фактор распространения антибиотикорезистентности	449
Е. В. Старикова, Е. Н. Ильина	
Биоинформатический анализ полиморфизма генов интерналинов <i>inlA</i> и <i>inlB</i> штамма <i>Listeria monocytogenes</i> АУФ	450
С. С. Зайцев, Н. В. Кичемазова, М. С. Лаврухин, Д. Г. Оглодина, О. С. Ларионова, В. А. Федорова	
Изучение первичного и вторичного метаболома растений в условиях их адаптации к стрессам ..	451
Н. В. Фролова, Т. Е. Билова, А. А. Фролов	
Онтологический подход к анализу дифференциальной экспрессии генов на основе больших транскриптомных данных	452
Д. Ю. Ощепков, С. Г. Шихевич, О. Е. Редина, И. В. Чадаева, Р. В. Кожемякина, К. Золотарева, Б. Хандаев, Е. Б. Шарыпова, П. М. Пономаренко, А. Г. Богомоллов, Н. В. Климова, Н. Г. Колосова, М. Назаренко, Н. А. Колчанов, А. Л. Маркель, М. П. Пономаренко	
Секвенирование полных диплоидных геномов высших организмов должно стать новой парадигмой в изучении ядерного генетического материала	453
А. В. Чемерис	
Протеогеномный анализ для контроля состава пищевой продукции на примере определения фальсификации травяных напитков	454
И. К. Чудинов, А. В. Лукина-Гронская, А. А. Криницина, М. И. Антипин, М. В. Логачева, Е. В. Корнеенко, И. О. Бутенко, А. С. Сперанская	



Пангеномный анализ прокариот как эффективный инструмент в таксономических и функциональных исследованиях представителей семейств *Micrococcaceae* и *Azospirillaceae* 455
С. Ю. Щеголев, Г. Л. Бурыйгин, Л. А. Дыкман, Л. Ю. Матора

Наличие гена *trpF* и его фенотипическое проявление у бактерий рода *Listeria*456
Е. В. Ябурова, Л. И. Кононова

Симпозиум 4: Медицинская генетика и моделирование болезней человека Symposium 4: Medical Genetics and Modeling of Human Diseases

Разработка флуоресцентных зондов на основе dCas9 и флуоресцентных белков, способных образовывать FRET-пары, для визуализации геномных локусов458
Г. А. Абушинова, В. В. Жердева, Л. Г. Малошенко

Анализ межгенных взаимодействий полиморфных локусов генов TLRs при развитии тяжелой формы COVID-19459
А. М. А. Аль-Джавади, И. О. Покудина, Л. В. Гутникова, А. А. Александрова

МФТП-индуцированная хроническая модель болезни Паркинсона460
А. Х. Алиева, М. И. Шадрин, М. М. Руденок, П. А. Сломинский

Механизм противовирусного действия наночастиц серебра461
М. Аль Фаррух, Д. Н. Магазенкова, Е. А. Скоморохова

Дифференциальная экспрессия генов *NBN*, *ATM*, *MLH1* в клеточных моделях астмы и туберкулеза462
Н. П. Бабушкина, Е. Ю. Брагина, И. Ж. Жалсанова, А. Н. Кучер

Возраст начала диеты влияет на накопление белого жира и экспрессию генов в метаболических тканях у мышей с ожирением463
Н. М. Бажан, Е. Н. Макарова, А. Ю. Казанцева, А. Д. Дубинина, Т. В. Яковлева

Персистенция нуклеотидных последовательностей неструктурных белков SARS-CoV-2 в циркулирующих моноцитах спустя 12 месяцев после COVID-19464
О. В. Балан, Н. П. Канцерова, Э. Л. Тихонович

Особенности влияния фактора роста фибробластов 21 (FGF21) на признаки неалкогольной жировой болезни печени в моделях моногенного и полигенного ожирения у мышей465
Н. Ю. Балыбина, Т. В. Яковлева, А. Ю. Казанцева, Е. Н. Макарова, Н. М. Бажан

Протеинкиназа mTOR – потенциальная мишень для терапии болезни Паркинсона466
А. И. Безрукова, К. С. Башарова, Г. В. Байдакова, Е. Ю. Захарова, С. Н. Пчелина, Т. С. Усенко

Оценка роли полиморфных вариантов генов системы метаболизма, транспорта и рецепции основных нейромедиаторов в развитии болезни Паркинсона467
А. Ю. Берёзов, Э. Г. Кокаева, Л. Н. Нефёдова

Разработка методики для детекции и генотипирования *Mycobacterium tuberculosis* на основе 4WJ ДНК-сенсоров и наночастиц468
М. Ю. Березовская, М. А. Быковская, Д. А. Горбенко, М. С. Рубель, Д. М. Колпацников

Genotoxic and epigenetic effects of chrysotile asbestos469
R. I. Bersimbay, A. Kussainova, O. Bulgakova

Возможности использования ДНК-наносенсоров на основе разделенных аптамеров для диагностирования генных и геномных мутаций470
Г. А. Бобков, М. С. Рубель, Е. И. Степченкова



Роль полиморфных вариантов генов в развитии преэклампсии и поиск связывающихся с ними микроРНК и днРНК	471
<i>О. Ю. Бордаева, Е. Г. Деревянчук, Д. Алсет, О. Ю. Бордаева</i>	
Генетический анализ формирования риска развития рака лёгкого у некурящих пациентов	472
<i>В. Ю. Буслаев, М. Л. Баканова, О. А. Соболева</i>	
Уровни транскриптов генов <i>RORA</i> и <i>FOXP3</i> в ЛПК пациентов с разными формами НАЖБП	473
<i>А. В. Васильева, И. В. Курбатова, Л. В. Топчиева, О. П. Дуданова, А. А. Шиповская</i>	
Изучение прионов и амилоидов с помощью дрожжевой модели	474
<i>М. Е. Велижанина, А. Е. Зобнина, Ю. В. Андрейчук, У. Н. Солодухина, Ю. В. Сопова, А. А. Рубель</i>	
Ассоциация полиморфных локусов <i>CYP2C9*2</i> и <i>CYP2C9*3</i> с фармакорезистентностью пациентов с шизофренией	475
<i>Т. С. Голубева, Т. В. Докукина, И. М. Голоенко, В. Г. Обьедков, Н. Ф. Гребень, Г. В. Сергеев, О. С. Бокуть</i>	
Экспрессия генов <i>DRD1</i> и <i>HRH1</i> в патогенезе расстройств шизофренического спектра и прогнозе антипсихотической терапии	476
<i>М. Н. Грунина, А. М. Заботина, Е. М. Крупицкий, А. Е. Тараскина</i>	
Функциональные полиморфизмы генов оксидативного стресса и репарации как биомаркеры риска развития РМЖ	477
<i>П. М. Джамбетова, З. И. Бисултанова</i>	
Разработка противовирусных средств нового поколения для защиты от респираторных вирусных инфекций на платформе прикладной электровирусологии	478
<i>Л. А. Джапаридзе, С. Б. Оникиенко</i> <i>Санкт-Петербургский Научный Центр РАН, Санкт-Петербург</i>	
Влияние экстраклеточных везикул жировой ткани на экспрессию генов обратного транспорта холестерина в макрофагах человека	479
<i>К. В. Драчева, И. А. Побожьева, К. А. Анисимова, М. Н. Грунина, З. М. Хамид, С. Г. Баландов, Д. И. Василевский, С. Н. Пчелина, В. В. Мирошникова</i>	
Роль полиморфизма rs5760492 гена гамма-глутамилтрансферазы 1 в развитии инфаркта мозга .	480
<i>Е. Л. Дроздова, М. А. Солодилова, А. А. Полоникова</i>	
Транскриптомный анализ единичных клеток эмбрионидных телец человека	481
<i>Д. И. Жигалина, Т. Н. Киреева, Т. В. Никитина, С. Н. Государкина, Т. С. Геращенко, А. А. Хозяинова, М. Е. Меняйло, А. А. Фролова, А. А. Щеголева, М. С. Третьякова, Е. В. Денисов, Н. А. Скрыбин</i>	
Динамика накопления мутаций в геноме раковых клеток больных множественной миеломой	482
<i>А. С. Жук, А. Ю. Аксенова, Е. И. Степченкова, А. Д. Гарифуллин, И. И. Кострома, С. В. Грицаев</i>	
Изучение взаимосвязи вариантов гена <i>SNCA</i> и уровня мРНК его сплайсинг изоформ на активность лизосомных ферментов у пациентов с синуклеинопатиями в клетках периферической крови	483
<i>А. С. Журавлев, А. О. Лавринова, В. Н. Пидюрчина, Х. Фаюд, Е. А. Белых, И. В. Милюхина, О. А. Беркович, А. К. Емельянов, С. Н. Пчелина</i>	
Масштабный скрининг мутаций белка PrP мыши, приводящих к усилению или ослаблению его способности к амилоидной агрегации	484
<i>А. Е. Зобнина, М. Е. Велижанина, Ю. В. Андрейчук, Ю. В. Сопова, А. А. Рубель</i>	
Полиморфизм генов семейства цитохромов P-450 и коморбидная патология у пациентов с COVID-19	485
<i>Е. С. Иванова, М. А. Ид</i>	



Влияние высококалорийной диеты на метаболизм меди в жировой ткани гетерозиготных мышей, нокаутных по гену болезни Вильсона <i>Atp7b</i>	486
<i>Е. Ю. Ильичева, М. Аль Фаррух, З. М. Джассим, Е. А. Скоморохова, Н. В. Цымбаленко</i>	
Оценка уровня мРНК генов <i>Fgf21</i> и <i>Klb</i> у мышей с разной степенью развития ожирения	487
<i>А. Ю. Казанцева, Т. В. Яковлева, А. Д. Дубинина, Е. Н. Макарова, Н. М. Бажан</i>	
Ассоциация полиморфного варианта rs910652 гена <i>HSPA12B</i> с тяжелым течением COVID-19	488
<i>А. Р. Карпенко, К. А. Кобзева, А. В. Дорофеева, М. А. Бабкина, В. А. Сергеева, О. Ю. Бушуева</i>	
Динамика возраста матерей и эффективность пренатального скрининга в Санкт-Петербурге (2013–2023)	489
<i>Т. К. Кашеева, Е. С. Шабанова, А. Л. Коротеев</i>	
Новая мутация с.2781_2782insCACA в гене <i>MYBPC3</i> вызывает значительное снижение уровня транскрипта гена в миокарде при гипертрофической кардиомиопатии	490
<i>И. С. Киселев, М. С. Козин, Н. М. Баулина, М. Б. Шарипова, А. С. Зотов, Е. А. Степанова, Э. В. Курилина, Г. Ж. Абдуллаева, Д. А. Затейщиков, О. С. Чумакова, О. О. Фаворова</i>	
Дифференциальная экспрессия генов у пациентов с наследственной и спорадической формами гипертрофической кардиомиопатии	491
<i>А. Л. Класс, П. А. Сломинский, И. Н. Власов, М. И. Шадрина, А. В. Лысенко, Г. И. Салагаев, Е. В. Филатова</i>	
Роль полиморфного варианта RS187084 гена <i>TLR-9</i> в развитии остеоартроза в различных популяциях	492
<i>Г. К. Кныш</i>	
Связь вариаций гена <i>HSPA4</i> с риском развития ишемического инсульта	493
<i>К. А. Кобзева, А. В. Дорофеева, М. А. Бабкина, Е. И. Колодежная, О. Ю. Бушуева</i>	
Цифровой двойник пациента	494
<i>Ф. А. Колпаков, Е. О. Кутумова, П. Ю. Кондрахин, Г. И. Лифшиц</i>	
Анализ экспрессии генов в тканях пациентов с диагнозом амиоплазия	495
<i>А. Е. Комиссаров, И. В. Ткачева, Е. М. Латыпова, О. И. Большакова, С. В. Саранцева</i>	
Генетический скрининг детей больных гипоспадиями: исследование гена CFTR и локуса AZF методом ПЦР в реальном времени	496
<i>Е. А. Косачева</i>	
Анализ фенотипа для верификации прогероидного синдрома	497
<i>М. А. Корженевская, С. А. Лаптев, Т. Л. Гиндина</i>	
Анализ экспрессии длинных некодирующих РНК при моделировании болезни Паркинсона	498
<i>М. В. Лукашевич, М. М. Руденок, С. А. Партевян, Е. И. Семенова, П. А. Сломинский, М. И. Шадрина, А. Х. Алиева</i>	
Изучение механизма нетипичного течения болезни Вильсона, выражающееся в восстановлении показателей статуса меди у взрослых мышей с нокаутом гена <i>ATP7B</i> -/-	499
<i>Д. Н. Магазенкова, А. Л. Ткачев, Е. А. Поташева</i>	
Активация процесса парганатоса в нейронах, дифференцированных из ИПСК пациентов с нейродегенеративными заболеваниями	500
<i>А. А. Малахова, С. П. Медведев, С. М. Закиян</i>	
Полиморфные варианты генов <i>TLR4</i> (rs4986790, rs4986791), <i>MTOR</i> (rs2295080, rs1883965) и риск развития саркоидоза лёгких	501
<i>И. Е. Малышева, Л. В. Топчиева, Э. Л. Тихонович</i>	



Поиск экспрессионных генетических маркеров, ассоциированных с феохромоцитомой	502
<i>К. О. Маслова, Э. Г. Кокаева, Л. Н. Нефедова</i>	
Моделирование воздействия на биологические эффекты фактора некроза опухоли посредством РНК-интерференции ММП9 при псориазе	503
<i>А. В. Мезенцев, Ю. А. Мозулевцева, С. А. Брускин</i>	
Выявление регуляторных SNPs, потенциально вовлеченных в механизмы развития диабета 2 типа и ответ на метформин	504
<i>Т. И. Меркулова, Е. Е. Корболина, И. С. Дамаров, А. О. Дегтярева</i>	
Анализ экспрессии генов иммунного ответа в мононуклеарах крови у больных раком легкого	505
<i>А. В. Минин, М. Л. Баканова</i>	
Особенности мозга <i>D. melanogaster</i> лабораторных линий <i>eyeless</i>	506
<i>О. Н. Антосюк, А. Д. Мокроусов</i>	
Первые результаты пилотного проекта по комплексному генетическому обследованию пар с невынашиванием беременности на раннем сроке	507
<i>Ю. А. Насыхова, Э. Н. Тонян, М. М. Данилова, Н. М. Двойнова, Т. Е. Лазарева, Е. М. Максютенко, Ю. А. Барбитов, О. В. Малышева, А. А. Михайлова, А. С. Глотов</i>	
Изучение локализации мутантной мРНК методом флуоресцентной гибридизации <i>in situ</i> на изогенной модели болезни Гентингтона с индуцибельной экспрессией участка гена <i>HTT</i> , содержащего CAG-повторы разной длины	508
<i>Ю. А. Островская, Л. Д. Беликова</i>	
Взаимодействия полиморфизмов вариантов генов факторов свертываемости крови и врожденного иммунитета и их влияние на тяжесть течения COVID-19	509
<i>А. В. Розачева, Л. В. Гутникова</i>	
Особенности фенотипа штамма <i>C. elegans</i> , несущего аминокислотную замену, гомологичную H1069Q в гене болезни Вильсона (БВ)	510
<i>П. Д. Самусева, А. Д. Шукина, Ф. Каталано, А. А. Мехова</i>	
Роль полиморфизма гена <i>p53</i> в патогенезе острого панкреатита	511
<i>Д. И. Сидоров, В. А. Трофимов</i>	
Мета-анализ данных полнотранскриптомного профилирования миокарда при различных наследственных заболеваниях сердца: РНК маркеры гипертрофической кардиомиопатии	512
<i>П. А. Сломинский, А. Б. Чумакова, И. Н. Власов</i>	
Пренатальная диагностика Мукополисахаридоз-плюс синдрома	513
<i>В. М. Софронова, Л. В. Готовцева, А. Л. Сухомясова, Н. Р. Максимова</i>	
Разработка подхода для детекции мультимерных форм пептида Аβ человека в чрезвычайно малых концентрациях	514
<i>Ю. К. Стюфляева, А. А. Зелинский, А. А. Рубель, О. А. Маликова</i>	
Частота аллеля -772A гена <i>FUT2</i> , ассоциированного с невосприимчивостью к <i>Helicobacter pylori</i> , в выборках якутов и русских Восточной Сибири	515
<i>Л. Э. Табиханова, Л. П. Осипова, Т. В. Чуркина, Д. В. Личман, Е. Н. Воронина, М. Л. Филипенко</i>	
Систематическое сравнение генетических эффектов в биобанке Британии (UKB) и FinnGen для выявления детерминантов воспроизводимости ассоциаций	516
<i>А. А. Ткаченко, А. И. Чангалиди, Е. М. Максютенко, Ю. А. Насыхова, Ю. А. Барбитов, А. С. Глотов</i>	



CNV, ассоциированные с нарушениями психомоторного развития, как возможная причина эмбриональной гибели	517
<i>Д. А. Федотов, А. А. Кашеварова, Н. А. Скрябин, М. Е. Лопаткина, О. Ю. Васильева, Е. Н. Толмачева, Г. В. Дроздов, Е. О. Беляева, Л. И. Минайчева, В. В. Петрова, Е. Г. Равжаева, О. А. Салюкова, В. М. Сивоха, С. В. Фадюшина, Г. Н. Сеитова, Л. П. Назаренко, И. Н. Лебедев</i>	
Проведение функционального анализа для подтверждения патогенности вариантов нуклеотидной последовательности у пациентов с наследственными заболеваниями	518
<i>А. Ю. Филатова, П. А. Спарбер, К. А. Давыденко, Ю. В. Вяхирева, Д. Б. Акимова, Е. В. Татарский, Е. А. Осипова, М. Ю. Скоблов</i>	
Комплексное генетическое и клиническое исследование как инструмент изучения репродуктивной патологии, причин и механизмов ее развития и фенотипической вариабельности	519
<i>В. Б. Черных, О. А. Соловова, Т. М. Сорокина, М. В. Андреева, С. Ш. Хаят, М. И. Штаут</i>	
Применение молекулярно-генетических методов для выявления биоразнообразия микробиоты у лиц с метаболическими нарушениями	520
<i>П. А. Чижков, В. Н. Калаев</i>	
Роль генетических вариантов генов, кодирующих белки дофаминергической и холецистокининергической систем, в патогенезе панических расстройств пациентов Московского региона	521
<i>С. С. Шепталина, З. Г. Кокаева, О. И. Рудько</i>	
Разработка технологии на основе изотермической амплификации, совмещенной с детекцией дезоксирибозимами, для диагностики инфекций нижних дыхательных путей	522
<i>Л. А. Шкоденко, В. С. Кузнецова</i>	
Генная терапия миомы матки с помощью невирусной доставки суицидного гена тимидинкиназы HSV-TK	523
<i>С. В. Штыкалова, А. А. Егорова, Н. Ю. Швед, А. В. Киселев</i>	
Анализ изменения экспрессии генов в тканях мозга мышей с МФТП-индуцированной хронической моделью болезни Паркинсона	524
<i>М. В. Шульская, М. М. Руденко, Е. И. Семенова, М. В. Лукашевич, С. Н. Рыболовлев, С. А. Партевян, П. А. Сломинский, М. И. Шадрина, А. Х. Алиева</i>	

Симпозиум 5: Селекция и биотехнология животных Symposium 5: Animal Breeding and Biotechnology

Криорезистентность и приживляемость эмбрионов овец, полученных на разной стадии развития и криоконсервированных разными технологиями	526
<i>А. М. М. Айбазов, М. И. Селионова</i>	
Полиморфизм генов β -лактоглобулина и α -лактальбумина у коз альпийской породы	527
<i>К. А. Беломестнов, М. И. Селионова</i>	
Определение типов конституции в популяции симментальского скота по удельно-массовому коэффициенту	528
Новый комплексный селекционный индекс в селекции животных	529
<i>Н. В. Кониц, М. Б. Улимбашев</i>	
Анализ ассоциаций однонуклеотидных замен с компонентами молока коз	530
<i>М. И. Селионова, В. И. Трухачев, А. А. Белоус</i>	



Идентификация полиморфизма в генах, ассоциированных с биомаркерами компонентного состава молока коров, с использованием методов геномного анализа и инфракрасной спектроскопии	531
А. А. Сермягин, Н. А. Зиновьева	
Создание мультиплексной NGS-панели для улучшения селекционной работы в области свиноводства	532
Э. А. Снегин, А. А. Сычев, О. Ю. Артемчук, А. С. Бархатов, Е. А. Снегина, С. Р. Юсупов, А. Ю. Юсупова	
Генетическая структура лошадей кабардинской породы по генам <i>MC1R</i> и <i>ASIP</i> , детерминирующие масть	533
А. Д. Хаудов, М. Х. Жекамухов, Х. К. Амшонов	

Симпозиум 6: Пост-трансляционные процессы

Symposium 6: **Post-translational Processes**

Влияние цитоплазматического pH на фазовую сепарацию Sup35NM в клетках <i>Saccharomyces cerevisiae</i> при стрессовых воздействиях	535
А. Е. Гаверилов, Н. А. Горшенева, К. Ю. Куличихин, А. Г. Матвеевко, А. А. Рубель	
Сравнительная характеристика штаммов [<i>PSI</i> ⁺], образованных белком Sup35, с делециями различных участков прионогенного домена	536
К. Ю. Куличихин, Ю. В. Сопова, А. А. Рубель	
Поиск амилоидогенных белков человека с использованием тест-системы на модели дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	537
В. А. Прохоров, Ю. В. Андрейчук, А. Ю. Аксенова, А. А. Рубель	
Синтез рибозо-5-фосфата как фактор, модулирующий чувствительность клеток <i>E. coli</i> к антибиотикам	538
Т. А. Серегина, С. А. Складорова, Р. С. Шакулов, А. С. Миронов	
Поиск белков, способных коагрегировать с альфа-синуклеином в протеомах бактерий	539
Н. П. Трубицина, О. М. Землянко, Т. М. Рогоза, Л. Г. Данилов, Г. А. Журавлева, С. А. Бондарев	
Влияние фактора инициации трансляции eIF3 на эффективность терминации трансляции у эукариот	540
Е. Ю. Шувалова, А. В. Шувалов, В. Аль Шейх, Н. С. Бизяев, Е. З. Алкалаева	

Симпозиум 7: Эволюционная генетика

Symposium 7: **Evolutionary Genetics**

FISH-картирование кластеров 45S и 5S рДНК на хромосомах хозяйственно-ценных видов амаранта <i>Amaranthus cruentus</i> L. и <i>A. hypochondriacus</i> L.	542
А. В. Амосова, С. А. Зоцук, Ю. В. Кальнюк, Т. Е. Саматадзе, О. Ю. Юркевич, Ф. М. Хазиева, И. В. Басалаева, А. И. Морозов, О. В. Муравенко	
Репродуктивные взаимоотношения между биотипами, морфологически близкими к <i>Elymus lenensis</i> (Poaceae: <i>Triticeae</i>)	543
Д. Д. Андрейчук, А. В. Агафонов, Е. В. Шабанова (Кобозева)	
Роль естественного отбора в формировании транскриптома децидуальных клеток плаценты	544
А. А. Бабовская, Е. А. Трифонова, А. А. Зарубин, В. А. Степанов	



Геномное разнообразие генов катехолдиоксигеназ у штаммов <i>Stutzerimonas stutzeri</i>	545
Э. В. Бабынин, Ю. Р. Гусманова, И. А. Дегтярева	
Сопоставление митоза и мейоза при изучении многообразия млекопитающих на примере некоторых представителей грызунов	546
В. М. Малыгин, М. И. Баскевич, Л. Д. Сафронова, Е. В. Черепанова	
Межвидовая дифференциация промысловых рыб рода <i>Coregonus</i> (<i>C. muksun</i> , <i>C. pidschian</i>) методом SCoT-праймеров	547
Е. О. Белякова, А. А. Жукова	
Анализ моделей укороченной изоформы белка Nxf1 различных представителей <i>Metazoa</i> и таксономические различия	548
Д. Д. Бондарук, Е. В. Голубкова, Л. А. Мамон, Д. И. Пелле, А. В. Васильев	
Применение метода SCoT-праймеров для генетической дифференциации ряпушки (<i>C. albula</i> , <i>C. sardinella</i>)	549
К. В. Вульф, А. А. Жукова	
Генетический полиморфизм муксуна (<i>C. muksun</i>) и пыжьяна (<i>C. pidschian</i>), сем. Coregonidae	550
А. А. Жукова, О. В. Апаликова	
Интеграция репитомных и цитогенетических данных для сравнительного анализа геномов видов <i>S. officinalis</i> L. и <i>S. sclarea</i> L.	551
Ю. В. Кальнюк, О. Ю. Юркевич, Т. Е. Саматадзе, С. А. Зошук, А. В. Амосова, О. В. Муравенко	
Ведущая роль хромосомных перестроек при быстром видообразовании в роде <i>Alexandromys</i> (Rodentia, Microtinae)	552
И. В. Картавцева	
Биоинформатический анализ повторяющихся последовательностей криптоических видов малярийных комаров <i>Anopheles messeae</i> и <i>Anopheles</i>	553
К. М. Кирилленко, Д. Н. Старков, Г. Н. Артемов, И. В. Шарахов	
Идентификация последовательностей, входящих в конститутивный гетерохроматин генома японского перепела	554
М. М. Кулак, С. А. Галкина	
Видоспецифичные маркеры мейотических хромосом трех видов гадюк рода <i>Vipera</i>	555
И. В. Редкоп, О. Л. Коломиец, В. Е. Спангенберг	
Полиплоидизация как результат расселения растений в антропогенно нарушенные районы высокогорья	556
Н. В. Реутова, М. Б. Малаева, Ф. Р. Дреева, Т. В. Реутова, П. М. Джамбетова	
Анализ эволюционной вариабельности длины теломер у модельных мохообразных	557
А. В. Санникова, М. Р. Шарипова, Е. В. Шакиров, Л. Р. Валеева	
Анализ инвертированных синтенных блоков в X хромосоме малярийного комара <i>Anopheles</i> <i>messeae</i>	558
Е. С. Соболева, И. В. Шарахов, Г. Н. Артемов	
Гомологичности Н. И. Вавилова и Э. Д. Копа	559
В. В. Суслов	
Цитогенетическое описание хромосомы, ограниченной зародышевой линией, зебровой амадины	560
О. Д. Такки, Ю. С. Жукова, С. А. Галкина	



Метаболомные паттерны естественного отбора в популяции человека	561
<i>Я. Р. Тимашева</i>	
Расположение цветков на побегах, гомологичное и аналогичное соцветию	562
<i>В. Е. Харченко</i>	
Изменчивость гена <i>cut b</i> у восточноазиатской мыши <i>Apodemus peninsulae</i> Thomas, 1906 – природного носителя хантавируса AMRV на юге Приморского края	563
<i>В. Д. Цуканова, И. Н. Шереметьева</i>	

Симпозиум 8: Структурная и функциональная протеомика Symposium 8: Structural and Functional Proteomics

Анализ секретируемых пептидов мягкой пшеницы <i>Triticum aestivum</i> в условиях засухи	565
<i>Р. А. Азаркина, А. С. Мамаева, А. С. Макеева, С. И. Ковальчук, И. А. Фесенко</i>	
Анализ белков с высокой осмотической активностью из сыворотки крови трески атлантической <i>Gadus morhua</i> в терминах генной онтологии	566
Протеомный подход в изучении роли рост-стимулирующих ризобактерий в устойчивости растений томата к засухе	567
<i>А. К. Гурина, Н. В. Фролова, Д. П. Горбач, Е. М. Лукашева, А. В. Кузнецова, Ю. С. Шумилина, К. Алхаже, Т. Е. Былова, А. А. Орлова, С. А. Силинская, М. А. Черевацкая, Т. С. Леонова, А. И. Шапошников, Д. С. Сырова, А. А. Фролов, А. А. Белимов</i>	

Симпозиум 9: Генетика человека Symposium 9: Human Genetics

Genetic variations of <i>lncRNA-H19</i> and <i>miR-33</i> in association with fetal growth restriction	569
<i>D. M. Alset, M. A. Eid, E. V. Butenko, T. P. Shkurat</i>	
Association of <i>GSTP1</i> and <i>GPX4</i> genetic variants with COVID-19 severity	570
<i>M. A. Eid, D. M. Alset, T. P. Shkurat</i> <i>Southern Federal University</i>	
Изучение ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов, локализованных в некодирующих регионах перед генами интерлейкинов, с бесплодием различного генеза	571
<i>Е. В. Бутенко, Я. В. Баранова, О. В. Лянгасова, С. В. Ломтева</i>	
Аномалии метилома при ранней эмбриональной гибели	572
<i>С. А. Васильев, В. В. Деменева, О. Ю. Васильева, Д. И. Жигалина, Е. Н. Толмачева, Д. Г. Шевцов, И. В. Лушников, Е. А. Саженова, Т. В. Никитина, И. Н. Лебедев</i>	
Анализ уровня метилирования промоторного участка гена <i>CADM1</i> у женщин с клинически значимой концентрацией ВПЧ	573
<i>В. В. Вольчик, Е. В. Машкина</i>	
Роль эффекта основателя в распространенности патогенных вариантов с. 919-2A > G, с. 2027T > A и с. 1545T > G гена <i>SLC26A4</i> , ассоциированных с потерей слуха, в Республике Тыва (Южная Сибирь)	574
<i>В. Ю. Данильченко, М. В. Зыцарь, О. Л. Посух</i>	
Молекулярно-генетическая диагностика несовершенного остеогенеза в Томской области	575
<i>И. Ж. Жалсанова, Е. А. Фонова, Н. Р. Валиахметов, С. Н. Государкина, А. А. Зарубин, Г. Н. Сеитова, Л. И. Минайчева, Н. А. Скрыбин</i>	



Спектр выявленных мутаций у больных с несовершенным остеогенезом в Якутии методом NGS	576
<i>Р. Н. Иванова, А. Л. Сухомясова, П. И. Голикова, Н. Р. Максимова</i>	
Сигналы направленного отбора в популяциях коренного населения Сибири	577
<i>Н. А. Колесников, В. Н. Харьков, А. А. Зарубин, М. И. Воевода, М. А. Губина, О. В. Штыгашева, Н. Р. Максимова, А. Л. Сухомясова, В. А. Степанов</i>	
Изменение липидного профиля и морфологии экстраклеточных везикул плазмы крови при болезни Паркинсона, ассоциированной с мутациями в гене <i>GBA1</i>	578
<i>А. Э. Копытова, Т. С. Усенко, А. С. Силантьев, В. Д. Лузанова, А. Д. Изюмченко, Д. Г. Кулабухова, Л. А. Гараева, И. В. Милюхина, Е. Б. Пичкур, Н. Б. Захаржевская, Т. А. Штам, С. Н. Пчелина</i>	
Генетические основы предпочтений в пищевом поведении	579
<i>М. Е. Лобанов, О. И. Гуменюк, Ю. В. Черненко</i>	
Средовые факторы риска модифицируют ассоциацию полиморфного варианта rs17713054 с тяжелым течением COVID-19	580
<i>А. В. Локтионов, К. А. Кобзева, Е. В. Кольберг, В. Г. Кудрявцев, В. А. Сергеева, О. Ю. Бушуева</i>	
Анализ клонов, содержащих двуцепочечные разрывы ДНК	581
<i>О. Д. Манагарова, Е. Е. Слынько</i>	
Профиль экспрессии длинных некодирующих РНК и генов, вовлеченных в клеточное старение и окислительный стресс у больных с хронической обструктивной болезнью легких	582
<i>В. А. Маркелов, Л. З. Ахмадишина, Т. Р. Насибуллин, Г. Ф. Корытина</i>	
Анализ транскрипции генов системы репарации при ВПЧ-инфекции	583
<i>Е. В. Машкина, В. В. Вольчик, Е. С. Музлаева, З. Ш. Исаева</i>	
Оценка информированности ученых и медицинских работников в Российской Федерации о биобанкировании как первый шаг к преодолению барьера между пациентом и биобанком	584
<i>А. А. Михайлова, Е. С. Богомякова, Р. А. Илларионов, З. Н. Тонян, Ю. А. Насыхова, А. С. Глотов</i>	
Роль нарушений метаболизма меди в повышении риска развития болезни Паркинсона	585
<i>З. М. Муружова, М. Н. Карпенко, Е. Ю. Ильичева, Л. В. Пучкова</i>	
Взаимосвязь дисфункции глюкоцереброзидазы и накопления альфа-синуклеина при наличии мутаций в гене <i>GBA1</i> в контроле и при болезни Паркинсона	586
<i>М. А. Николаев, А. Э. Копытова, А. Д. Изюмченко, И. В. Милюхина, Г. В. Байдакова, А. К. Емельянов, Е. Ю. Захарова, С. Н. Пчелина</i>	
Ассоциация полиморфного варианта rs547025 гена <i>SIRT3</i> с развитием миомы матки в популяции Центральной России	587
<i>Л. А. Пономарева, К. А. Кобзева, А. В. Дорофеева, О. Ю. Бушуева</i>	
Поиск и функциональный анализ регуляторных полиморфизмов в сайтах связывания микроРНК на основе омиксных технологий	588
<i>Е. Ю. Рыкова, Н. И. Ершов, А. О. Дегтярева, Л. О. Брызгалов, Т. И. Меркулова</i>	
Амилоидогенез и рак: поиск новых потенциальных мишеней для терапии	589
<i>М. В. Рябина, А. А. Зелинский, Ю. О. Чернов, А. А. Рубель</i>	
Связь нарушений метилирования в ворсинах хориона с жизнеспособностью эмбрионов с трисомией хромосомы 16 и моносомией хромосомы X	590
<i>Е. Н. Толмачева, Д. И. Жигалина, О. Ю. Васильева, Д. Г. Шевцов, Е. А. Фонова, Е. А. Саженова, Т. В. Никитина, И. Н. Лебедев, С. А. Васильев</i>	
Исследование спектра микроРНК в плазме крови у пациентов с сахарным диабетом 2 типа	591
<i>З. Н. Тонян, Ю. А. Барбитов, Ю. А. Насыхова, М. М. Данилова, А. А. Михайлова, А. С. Глотов</i>	



Молекулярно-генетическая диагностика пациентов с нервно-мышечными заболеваниями в Томской области	592
<i>Е. А. Фонова, О. Н. Одиноква, М. М. Склеймова, И. Ж. Жалсанова, Л. И. Минайчева, Г. Н. Сеитова, Н. А. Скрыбин</i>	
Гаплогруппа N1a2 Y-хромосомы: оценка филогении и возраста этноспецифичных сублиний у народов Сибири и Европы	593
<i>И. Ю. Хитринская, В. Н. Харьков, Л. В. Валихова, Д. С. Адамов, А. А. Зарубин, В. А. Степанов</i>	
Полиморфизм гена NFE2L2 у детей с избыточной массой тела	594
<i>Шкурят М. А.</i>	

Симпозиум 10: Селекция и биотехнология растений
Symposium 10: Plant Biotechnology and Breeding

Resistance of oat genotypes from Federal Research Center «Nemchinovka» to contamination with <i>Fusarium</i> fungi	596
<i>N. P. Gavrilova, T. Yu. Gagkaeva, A. S. Orina, A. S. Kolupaeva, A. D. Kabashov, I. G. Loskutov</i>	
Coevolution Unveiled: Sulfate Transporters Mediate Rice resistance and susceptibility to <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzicola</i>	597
<i>Zhiyuan Ji</i>	
Pathogenicity of <i>Fusarium</i> fungi to potato cultivars	598
<i>A. S. Orina, O. P. Gavrilova, I. I. Trubin, T. Yu. Gagkaeva</i>	
Systematic functional analysis of the TALEs of <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i> revealed potential susceptibility genes explored by the pathogen	599
<i>H. Wei, Y. Yining, W. Zhunyu, G. Yuxuan, J. Xingwang, Z. Jie, Y. Yanhua</i>	
<i>PWL1</i> , a G-type lectin receptor-like kinase, positively regulates leaf senescence and heat tolerance but negatively regulates resistance to <i>Xanthomonas oryzae</i> in rice	600
<i>Jiangmin Xu, Chunlian Wang, Fujun Wang, Yapei Liu, Man Li, Hongjie Wang, Yuhan Zheng, Kaijun Zhao, Zhiyuan Ji</i>	
Сорта пшеницы и тритикале для органического сельского хозяйства на Юге РФ	601
<i>И. Б. Аблова, Л. А. Беспалова, В. А. Филобок, А. Н. Боровик, О. Ю. Пузырная, В. Я. Ковтуненко, А. А. Мудрова, Ю. Г. Левченко, Л. М. Мохова, А. С. Тархов</i>	
Использование маркер-ориентированной селекции и Speed Breeding для созданий форм с заданным аллельным составом у озимой мягкой пшеницы	602
<i>М. Алкубеси, А. О. Блинков, М. Г. Дивашук</i>	
Взаимосвязь устойчивости растений дикого вида картофеля <i>S. chacoense</i> к Y вирусу картофеля с наличием ДНК маркеров гена устойчивости <i>Ryhc</i>	603
<i>А. Д. Антипов, Н. Е. Злобин, А. А. Гурина, Е. В. Розозина</i>	
Изменения профиля экспрессии генов биосинтеза каротиноидов в ответ на холодовой стресс у образцов кукурузы <i>Zea mays</i> , контрастных по холодостойкости	604
<i>Д. Х. Архестова, С. А. Брускин, А. В. Щенникова, Е. З. Кочиева</i>	
Транскрипционный фактор WOX2 в развитии корней и симбиотических клубеньков у люцерны <i>Medicago truncatula</i>	605
<i>К. А. Баштовенко, Л. А. Лутова, М. А. Лебедева</i>	
Проявление апомиксиса у линии зернового сорго AC-3	606
<i>Е. В. Беляева, Л. А. Эльконин, А. А. Владимирова</i>	



Методика создания высокоурожайных сортов арахиса (<i>Arachis hypogaea</i> L.)	607
<i>В. Д. Бемова, В. А. Гаврилова, Н. В. Кишлян, Т. В. Якушева, Л. Ю. Новикова</i>	
Изучение коллекции растений пшеницы с мутациями в промоторной области гена PPD-1	608
<i>А. А. Бережная, А. А. Киселева, А. Э. Коложвари, Е. А. Салина,</i>	
Изменения в антиоксидантной системе побегов пшеницы сорта «Курьер» при экзогенной обработке новым препаратом «Агрокор»	609
<i>З. А. Бережнева, Х. Г. Мусин, А. А. Березин, Б. Р. Кулуев</i>	
Поиск генетической устойчивости к мучнистой росе у образцов тыквенных культур коллекции ВИР и форм собственной селекции Крымской ОСС ВИР	610
<i>Ф. А. Беренсен, С. В. Кузьмин, Т. М. Пискунова, О. Ю. Антонова</i>	
Фенотипические и генотипические особенности линий зернового сорго, несущих генетическую конструкцию для РНК-сайленсинга гена γ -кафирина	611
<i>Н. В. Борисенко, Л. А. Эльконин, Т. Е. Пылаев, С. Х. Сарсенова, В. М. Панин</i>	
Северокавказский и Нижневолжский ареал Эгилопса цилиндрического (<i>Aegilops cylindrica</i>) как важный фактор эволюции пшеницы	612
<i>А. Н. Боровик</i>	
Использование РНК-аптамеров для ингибирования действия факторов вирулентности патогенов растений	613
<i>И. А. Абдеева, Л. Г. Малошенок, С. А. Брускин</i>	
Поиск белковых комплексов, стимулирующих регенерацию у <i>Medicago truncatula</i>	614
<i>А. В. Брынчикова, В. Ю. Симонова, Э. А. Поценкова, В. Е. Творогова, Л. А. Лутова</i>	
Кольцевые РНК – еще один уровень регуляции генов растений	615
<i>С. А. Бурсаков, А. В. Князев, П. Ю. Крупин, М. Г. Дивашук</i>	
Определение аллельного состояния гена Psu1-A1 в селекционных образцах озимой твёрдой пшеницы	616
<i>Н. Н. Вожжова</i>	
Характеристика образцов коллекции ВИР по аллельному составу генов <i>Rht-B1</i> и <i>Rht-D1</i>	617
<i>К. А. Волков, И. В. Поротников, Е. В. Зувев, О. А. Ляпунова, О. Ю. Антонова</i>	
Механизм регуляции клубнеобразования у картофеля с помощью азота в среде	618
<i>М. С. Ганчева, А. В. Мыскова, Л. А. Лутова</i>	
Метаболическое профилирование зерна пшеницы для оценки питательных качеств сортов	619
<i>Н. И. Голушко, Н. О. Ерофеева, С. А. Силинская, Д. В. Михайлова, А. А. Орлова, Т. Е. Билова, М. В. Шапошников, А. А. Фролов, Е. К. Хлесткина</i>	
Определение содержания хлорофилла и экспрессии генов его метаболизма в селекционных линиях кукурузы	620
<i>А. Х. Гяургиев, Д. Х. Архестова, Р. А. Гажева, А. И. Сарбашева</i>	
Возможности применения ускоренного выращивания (Speed Breeding) кукурузы (<i>Zea Mays</i> L.) ...	621
<i>А. Р. Дмитриева, А. О. Блинков, Н. Ю. Свистунова, В. Ю. Канунникова, А. А. Дервянко, А. А. Кочешкова, М. Г. Дивашук</i>	
Механизмы фотопериодической регуляции развития запасящего корня <i>редис</i>	622
<i>И. Е. Додуева, К. А. Кузнецова, Л. А. Лутова, И. Г. Тараканов</i>	
Роль сигнальных молекул клубеньковых бактерий Nod-факторов в контроле иммунного ответа у растений гороха	623
<i>А. М. Дымо, П. Ю. Козюлина, О. А. Павлова, Е. С. Канцурова, А. В. Долгих, Е. А. Долгих</i>	



Изучение морфогенетической способности различных сортов гороха и видов эксплантов при микроклональном размножении в культуре <i>in vitro</i>	624
<i>Н. Л. Ермоленко, Е. Н. Кулинкович, Е. Ф. Барчевская</i>	
Генофонд источников хозяйственно-ценных признаков озимой ржи	625
<i>Д. А. Жиганов, Т. Я. Ермолаева, Н. Н. Нуждина, Н. А. Салманова, В. Н. Нечаев</i>	
Результаты селекционной работы по созданию перспективных линий яровой мягкой пшеницы интенсивного морфотипа	626
<i>В. Г. Захаров</i>	
Состояние и перспективы выведения новых сортов кормового ячменя в Беларуси	627
<i>А. А. Зубкович, Е. Л. Долгова</i>	
Контролируемая активация и получение новых инсерций ретротранспозонов у подсолнечника <i>Helianthus annuus</i> L.	628
<i>М. Ю. Казанцев,, П. Ю. Меркулов,, Я. Н. Демурин, И. В. Киров,</i>	
Влияние чужеродного генетического материала на морфологическое строение побегов некоторых интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы	629
<i>А. В. Калинина, Ю. В. Даштоян</i>	
Новые ретротранспозонные маркёры для изучения генетического разнообразия сортов малины	630
<i>А. М. Камнев, Н. Д. Яговцева, Е. Ю. Невоструева, А. А. Кузьмина, О. Ю. Антонова</i>	
Определение ploидности селекционных и биотехнологических образцов овощных пропано-лакмоидным методом цитологического анализа	631
<i>Л. Ю. Кан</i>	
Ускоренное выращивание (Speed Breeding) сои	632
<i>В. Ю. Канунникова, Н. Ю. Свистунова, А. А. Кочешкова, А. О. Блинков, С. Радзеницец, М. Г. Дивашук</i>	
CRISPR/Cas9-опосредованный нокаут генов <i>SteIF4E-1</i> и <i>SteIF4E-2</i> картофеля <i>S. tuberosum</i> и его роль в развитии инфекции PVY	633
<i>В. Д. Карлов, А. В. Нежданова, Н. Е. Злобин, М. В. Лебедева, А. В. Бабаков, А. М. Камионская, В. В. Таранов</i>	
50 лет селекции тритикале в национальном центре зерна имени П. П. Лукьяненко	634
<i>В. Я. Ковтуненко, В. В. Панченко, А. П. Калмыш</i>	
Биотехнология сохранения коллекции <i>Beta vulgaris</i> L. <i>in vitro</i>	635
<i>Е. О. Колесникова, С. В. Пономарева, Р. В. Бердников</i>	
Получение трансгенных растений кукурузы с генетическими конструкциями CRISPR/Cas для индукции мутаций в гене <i>ameiotic</i>	636
<i>А. Ю. Колесова, Л. И. Мавлютова, С. Х. Сарсенова, Г. А. Геращенко, Л. А. Эльконин</i>	
Скрининг перспективных сортов мягкой пшеницы по устойчивости к возбудителям пятнистостей	637
<i>Э. А. Конькова, Ю. В. Зеленева</i>	
Оценка аллельного состояния гена <i>Cwi-4A</i> в коллекции твердой пшеницы методом <i>KASP</i> -анализа	638
<i>В. А. Коробкова, Д. С. Ульянов, А. С. Яновский, Л. А. Беспалова, М. А. Самарина, А. В. Архипов, Г. И. Карлов, М. Г. Дивашук</i>	
Разработка генетической модели для исследования влияния полифенолоксидазы на качественные характеристики зерна ячменя (<i>Hordeum vulgare</i> L)	639
<i>А. М. Короткова, А. А. Егорова, К. Хертиг, И. Хоффи, С. Хикель, С. В. Герасимова, О. Ю. Шоева, Й. Кумлен, Е. К. Хлесткина</i>	



Изучение сортового генофонда яровой пшеницы Республики Татарстан по генетическим маркерам устойчивости к желтой ржавчине	640
<i>В. В. Костенко, Н. Б. Баранова</i>	
Разработка набора SSR-маркеров для генетической паспортизации ячменя	641
<i>П. Ю. Крупин, М. А. Самарина, Д. С. Ульянов, А. С. Ермолаев, С. И. Воронов, Л. М. Ерошенко, Г. И. Карлов, М. Г. Дивашук</i>	
Видоспецифические признаки и скороспелость пшениц: анализ наследования и генетический контроль	642
<i>Ю. В. Кручинина</i>	
Меристемные регуляторы в развитии запасяющего корня у редиса посевного (<i>Raphanus sativus</i> L.)	643
<i>К. А. Кузнецова, И. Е. Додуева, Л. А. Лутова, А. М. Афонин, Л. Г. Данилов, М. С. Ганчева, В. Е. Творогова</i>	
Профиль экспрессии генов биосинтеза антоцианов в клубнях сортов картофеля <i>Solanum tuberosum</i> , контрастных по окраске клубней	644
<i>А. В. Кулакова</i>	
Отдаленная гибридизация овса как метод интродукции генетического материала диких и культурных видов в геном <i>A. sativa</i>	645
<i>Е. Н. Кулинкович, Н. Л. Ермоленко, И. Н. Саница</i>	
Изменение транскриптомного профиля контрастных генотипов дуба черешчатого под влиянием засухи	646
<i>В. Г. Лебедев, Т. С. Тихомирова, Т. А. Гродецкая, П. М. Евлаков, А. А. Попова, К. А. Шестибратов</i>	
Агроинфльтрация картофеля: насильно мил (не)будешь	647
<i>М. В. Лебедева, М. Н. Полякова, В. В. Таранов</i>	
Зимостойкость и продуктивность линий озимого ячменя в ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока»	648
<i>С. В. Ляцева, А. Д. Заворотина, Н. Ю. Ларионова, Т. Ю. Якушова</i>	
Генетическая природа диплоидных растений, развивающихся из выполненных зерновок в разноплоидных скрещиваниях ($2n \times 4n$) у линии кукурузы АТ, склонной к гаплоидному партеногенезу, и её гибридов	649
<i>Л. И. Мавлютова, А. Ю. Колесова, Л. А. Эльконин</i>	
Эволюция урожайности, устойчивости к стрессам и качества зерна, яровой твердой пшеницы в процессе селекции в Самарском НИИСХ	650
<i>П. Н. Мальчиков, М. Г. Мясникова</i>	
Биологическая активность кукумопин-подобных соединений <i>Arachis hypogaea</i> L.	651
<i>Н. А. Миргородский, Т. В. Матвеева</i>	
Редактирование генома тритикале с использованием технологии CRISPR/Cas9	652
<i>Д. Н. Мирошниченко, В. Р. Тимербаев, М. Г. Дивашук, А. С. Пушин, П. Ю. Крупин, М. Самарина, А. Ермолаев, Г. И. Карлов, С. В. Долгов</i>	
Реакция генотипов мягкой пшеницы разных групп спелости на инокуляцию <i>Paenibacillus nicotianae</i> AFI2	653
<i>Г. В. Мирская, В. Н. Пищик, О. П. Митрофанова, А. В. Дементьев, Ю. В. Хомяков, В. И. Дубовицкая, В. Е. Вертебный, Н. И. Воробьев</i>	
Аллельный скрининг контрастных по окраске корнеплода образцов свеклы столовой из коллекции ВИР	654
<i>А. С. Михайлова, Д. В. Соколова, Р. С. Рахмангулов, Н. А. Швачко, В. С. Попов, Е. К. Хлесткина</i>	



Генетические ресурсы популяций чилима <i>Tara</i> sp. на территории России	655
<i>Е. В. Михайлова, М. А. Панфилова, А. Е. Артюхин</i>	
Разработка молекулярных маркеров на гены <i>NLP 3</i> у <i>Triticum aestivum</i>	656
<i>Т. Д. Мохов, А. А. Кочешкова, Я. С. Меглицкая, А. В. Архипов, А. С. Ермолаев, М. Г. Дивашук, Г. И. Карлов</i>	
Изучение функций транскрипционных факторов <i>NLP</i> у картофеля и анализ их взаимодействия с регуляторами клубнеобразования	657
<i>А. В. Мыскова, М. С. Ганчева, Л. А. Лутова</i>	
Результаты селекции яровой тритикале в Красноярском крае	658
<i>В. И. Никитина</i>	
Реализация селекционных программ, обеспечивающих формирование высокоурожайных агроценозов риса	659
<i>В. С. Ковалёв, А. М. Оглы</i>	
Идентификация и структурно-функциональный анализ гена-кандидата из локуса <i>Ant27</i> , контролирующего синтез проантоцианидинов в зерне ячменя (<i>Hordeum vulgare</i> L.)	660
<i>М. О. Орбант, О. Ю. Шоева</i>	
Состав высокомолекулярных субъединиц глютеина и качество клейковины у линий пшеницы с чужеродным генетическим материалом	661
<i>О. А. Орловская, С. И. Вакула, Л. В. Хотылева, А. В. Кильчевский</i>	
Роль различных доменов <i>MtWOX9-1</i> в стимуляции соматического эмбриогенеза у <i>Medicago truncatula</i>	662
<i>Д. Б. Павлова, Д. В. Яковлева, В. Е. Творогова, Л. А. Лутова</i>	
Влияния грибов рода <i>Fusarium</i> на урожайность и качество пшеницы и тритикале и возможности использования РНК-интерференции и малых РНК в борьбе с грибными заболеваниями	663
<i>А. В. Пигалов, А. А. Соловьев, Ц. С. Гарибян</i>	
Генетические и селекционные аспекты повышения устойчивости озимых культур к низкотемпературным патогенам	664
<i>С. Н. Пономарев, Г. С. Маннапова, В. Ю. Горшков, М. Л. Пономарева, О. А. Гоголева, С. Ю. Павлова, И. О. Иванова</i>	
Цитоплазматическая мужская стерильность у яблони и груши	665
<i>Г. Д. Попов</i>	
<i>In silico</i> анализ локуса <i>SKr</i> , ассоциированного со скрещиваемостью мягкой пшеницы с рожью	666
<i>И. В. Поротников, О. Ю. Антонова, О. П. Митрофанова</i>	
Генетическая коллекция ВИР – источник биологического разнообразия льна	667
<i>Е. А. Пороховинова, А. В. Павлов, А. А. Слободкина, С. Н. Кутузова, Н. Б. Брач</i>	
Генотипирование коллекции озимой мягкой пшеницы с использованием <i>KASP</i> -маркеров в условиях Западной Сибири	668
<i>И. В. Потоцкая, С. С. Шепелев, Е. К. Турусбеков, А. И. Моргунов, А. С. Чурсин, А. М. Ковальчук, В. П. Шаманин</i>	
Опыты по ускоренному прохождению яровизации у озимых злаков	669
<i>С. Радзенице, Д. О. Бизякина, М. Алкубеси, А. Ю. Крупина, Н. Ю. Свистунова, В. Ю. Канунникова, А. О. Блинков, А. А. Кочешкова, М. Г. Дивашук</i>	
Поиск генов <i>TALE</i> в коллекции изолятов <i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>campestris</i>	670
<i>О. Л. Ражина, К. А. Черняев, Н. Е. Злобин, Ф. С.-У. Джалилов, А. Н. Игнатов, В. В. Таранов</i>	



Агробактериальная трансформация растений <i>Camelina sativa</i> (L.)	671
П. Л. Ражина, А. А. Веселкин, П. И. Козенкова, М. В. Лебедева, В. В. Таранов	
Традиционные и современные подходы в создании исходного материала для актуальных направлений селекции картофеля	672
Е. В. Рогозина, Н. В. Алпатьева, Е. А. Иванова, Н. А. Чалая, М. А. Кузнецова, А. Е. Соловьева	
Изучение коллекции картофеля ВИР на устойчивость к бактериальным заболеваниям	673
К. И. Родионов, М. Н. Ситников	
Фенотипирование растений картофеля с помощью морфо-физиологических инструментов	674
О. А. Розенцвет, Е. С. Богданова, Е. Е. Ломакина, В. Н. Нестеров	
Разработка методов получения корневых меристем на ветвях и приготовления препаратов хромосом цитрусов	675
Д. В. Романов, В. А. Коробкова, О. В. Разумова, О. С. Александров	
Разработка технологии молекулярно-генетической идентификации и паспортизации гибридов сахарной свёклы с использованием микросателлитных маркеров	676
Т. С. Руденко, А. А. Налбандян, Т. П. Федулова, И. В. Черепухина, Т. Н. Багмутова, Е. А. Слепокурова	
Генетическая коллекция <i>Ribes nigrum</i> L. ФНЦ Садоводства и использование её в селекции	677
Ф. Ф. Сазонов	
Оценка цитогенетической стабильности колхицин индуцированных форм синюхи голубой (<i>Polemonium caeruleum</i> L.)	678
Т. Е. Саматадзе, Ф. М. Хазиева, О. Ю. Юркевич, И. В. Басалаева, А. В. Амосова, О. В. Муравенко	
Возможности применения ускоренного выращивания (Speed Breeding) для подсолнечника	679
Н. Ю. Свистунова, А. О. Блинков, А. А. Кочешкова, С. Радзенице, В. Ю. Канунникова, М. Г. Дивашук	
Наследование генов гибридного некроза в популяции F2 льна-долгунца	680
А. Д. Симагин, Е. А. Вертикова, А. С. Симагина, С. А. Захарова	
Изучение роли генов семейства <i>WOX</i> в соматическом эмбриогенезе у <i>Medicago truncatula</i>	681
К. В. Смирнов, В. Ю. Симонова, В. Е. Творогова, Л. А. Лутова	
Использование методов GWAS и геномной селекции для изучения коллекционного и селекционного материала озимой ржи	682
Н. В. Смирнова, Т. В. Семилет, О. В. Солодухина, С. В. Тоцаков, К. Н. Козлов, Н. А. Швачко, Е. К. Хлесткина	
Характеристика образцов <i>Triticum petropavlovskiyi</i> Udacz. et Migusch. по хозяйственно-ценным признакам и получение гибридных форм <i>T. petropavlovskiyi</i> Udacz. et Migusch. × <i>T. aestivum</i> L. с окрашенным зерном и высокой массой 1000 зерен	683
К. В. Соболев, Т. Т. Ефремова, Е. В. Чуманова	
Новые сорта чечевицы, созданные методом межвидовой гибридизации	684
Г. Н. Суворова, А. В. Иконников	
Влияние ризосферных бактерий на относительную экспрессию антистрессовых генов картофеля	685
О. В. Ткаченко, А. Ю. Денисова, А. А. Куликов, Г. Л. Бурьгин, Н. В. Евсеева	
Молекулярные маркеры в идентификации генов устойчивости растений к болезням	686
Л. Г. Тырышкин	
Влияние наночастиц оксида меди на некоторые показатели роста растений березы в культуре <i>in vitro</i>	687
О. А. Федорова, Т. А. Гродецкая, П. М. Евлаков	



Профили коэкспрессии генов рециклинга витамина С коррелируют с содержанием аскорбата в листьях лука-порей	688
М. А. Филюшин	
Разнообразие автофертильных линий ржи <i>Secale cereale</i> L. по ювенильной устойчивости к грибным болезням	689
Н. В. Цветкова, Л. Г. Тырышкин, А. В. Войлоков	
Направления селекции ежи сборной в условиях Центрального Предкавказья	690
В. В. Чумакова, Т. М. Миронова, М. В. Деревянникова, В. Ф. Чумаков	
Характеристика яровых линий мягкой пшеницы с черной окраской зерна с целью их использования в селекции сортов пшеницы с повышенным содержанием антоцианов	691
Е. В. Чуманова, Т. Т. Ефремова, К. В. Соболев	
Репароген модификатор пара-аминобензойная кислота (ПАБК)	692
Н. С. Эйгес, Д. Р. Барановский, А. Р. Барановский-Рапопорт, П. Н. Романов	
Изучение репитома <i>H. alpinum</i> и FISH-картирование маркерных сателлитных ДНК на хромосомах видов рода <i>Hedysarum</i>	693
О. Ю. Юркевич, Т. Е. Саматадзе, А. Р. Семенов, С. А. Зоцук, А. В. Амосова, О. В. Муравенко	
Цитогенетическое исследование <i>Thinopyrum caespitosum</i>	694
А. И. Юркина, В. М. Соколова, П. Ю. Крупин, Д. С. Ульянов, М. Г. Дивашук, Г. И. Карлов	

Симпозиум 11: Мутации, рекомбинация, репарация Symposium 11: Mutations, DNA Repair and Recombination

Изменение активности ДНК-полимеразы β человека вследствие возникновения природных однонуклеотидных мутаций	696
О. А. Кладова, Т. Е. Тюгашев, А. А. Мирошников, Д. С. Новопашина, Н. А. Кузнецов, А. А. Кузнецова	
Локализация белка RecN <i>E. coli</i> в процессе SOS-ответа, вызванного одиночным разрывом ДНК ...	697
В. Д. Роцектаева, Н. Е. Морозова, М. А. Ходорковский, А. Д. Ведяйкин	
Цитогенетические механизмы гибридной стерильности у самцов гибридов F ₁ между <i>Mus musculus wagneri</i> и <i>M. spicilegus</i> в связи с проблемами таксономии формы <i>wagneri</i>	698
Л. Д. Сафронова, В. М. Малыгин, А. А. Мальцев, Е. В. Котенкова	
Характеризация методом оптического захвата стабильности нуклеосом, реконструированных с использованием 601 и 603 высокоафинных последовательностей Видома	699
Д. А. Янчик, В. А. Винник, И. Д. Гончаров, А. А. Алексеев, М. М. Кутузов, М. А. Ходорковский, О. И. Лаврик	

Симпозиум 12: Генетика надорганизменных систем Symposium 12: Genetics of Supraorganismal Systems

Методика выращивания гороха посевного (<i>Pisum sativum</i> L.) в стерильных условиях	701
Г. А. Ахтемова, А. С. Сулима, А. И. Жернаков, И. Ю. Журавлев, В. А. Жуков,	
Характеристика первичного метаболома азотфиксирующих клубеньков растений сорта Triumph и его родительских сортов Classic и Vendevil	702
Н. О. Ерофеева, Т. Е. Билова, А. А. Орлова, С. А. Силинская, Н. В. Фролова, А. В. Соболева, О. Ю. Штарк, В. А. Жуков, А. А. Фролов	



Филогенетическое положение штаммов <i>Rhizobium laguerreae</i> AMPS в пределах комплекса видов <i>Rhizobium leguminosarum</i>	703
Е. А. Киричек, А. В. Цыганова, В. Е. Цыганов	
Анализ способности штамма ТОМ <i>Rhizobium leguminosarum</i> к образованию клубеньков в полевых условиях с использованием тест-системы на основе последовательности гена <i>nodX</i>	704
М. С. Клюкова, Е. А. Алексеева, В. А. Ракова, А. И. Жернаков, А. С. Сулима, И. А. Тихонович, В. А. Жуков	
Микробиом пахотных, залежных и природных дерново-подзолистых краснопрофильных почв Ленинградской области	705
Т. И. Низамутдинов, А. К. Кимеклис, Г. В. Гладков, Е. В. Андронов, Е. В. Абакумов, В. И. Поляков	
Генетический контроль бактериальной системы секреции VI типа у штаммов <i>Rhizobium leguminosarum</i> bv. <i>viciae</i>	706
О. А. Павлова, А. А. Шалякина, Е. А. Долгих	
Геномный и транскриптомный анализ признака симбиотической отзывчивости у гороха посевного (<i>Pisum sativum</i> L.)	707
В. А. Ракова, Е. А. Зорин, А. С. Сулима, А. И. Жернаков, Д. А. Кузьмина, М. С. Клюкова, Д. А. Романюк, О. А. Кулаева, О. Ю. Штарк, Г. А. Ахтемова, И. А. Тихонович, В. А. Жуков	
Исследование генов <i>TOO MUCH LOVE</i> в развитии клубеньков у люцерны	708
Д. Н. Рубцова, М. А. Лебедева, Л. А. Лутова	

Симпозиум 13: Направленное изменение генетической информации

Symposium 13: Directed Change of Genetic Information

<i>Arabidopsis thaliana</i> dGAG gene silencing leads to severe plant morphological abnormalities	710
А. В. Polkhovskiy, I. V. Kirov, A. S. Abramova	
Моделирование неонатальной эпилепсии человека на мышах с нокаутом гена <i>kcna1</i>	711
И. И. Ахмаров, О. А. Кириллов, А. В. Чиринскайте, Ю. В. Сопова, Е. И. Леонова	
Роль факторов транскрипции семейства GATA в регуляции метаболизма одноклеточной зелёной водоросли <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	712
П. А. Виролайнен, Е. М. Чекунова	
CRISPR-Cas нокаут гена <i>LEAFY</i> для получения стерильных клонов у осины	713
Д. С. Каржаев, В. А. Волков, В. В. Нестерчук, Е. Д. Сафроньчева, Е. К. Потокينا	
Создание системы для тканеспецифичной экспрессии сенсора напряжения <i>Positron</i> у трансгенных мышей	714
О. А. Кириллов, И. И. Ахмаров, А. В. Чиринскайте, Ю. В. Сопова, Е. И. Леонова	
Поиск и редактирование генов-ингибиторов соматического эмбриогенеза у <i>Medicago truncatula</i>	715
Э. С. Константинов, В. Е. Творогова, Э. А. Поценковская, Л. А. Лутова	
Восстановление рамки считывания при мутациях в экзонах 11–12 гена дистрофина	716
Е. В. Куршакова, О. А. Левченко, И. О. Панчук, К. С. Кочергин-Никитский, О. В. Володина, С. Э. Нагиева, С. А. Смирнихина, А. В. Лавров	
Оценка эффективности редактирования направляющих РНК для разработки метода пропуска экзонов 43–55 в гене <i>DMD</i>	717
О. А. Левченко, С. Э. Нагиева, И. О. Панчук, К. С. Кочергин-Никитский, О. В. Володина, Е. В. Куршакова, А. В. Лавров	



Анализ аллельного разнообразия генов яровой пшеницы с помощью технологии ONT Amplicon-Seq	718
<i>Е. С. Полховская</i>	
Новый РАМ повышает специфичность нуклеазы LbCas12a в условиях <i>in vitro</i>	719
<i>А. В. Чиринская, А. А. Зелинский, Ю. В. Сопова, Е. И. Леонова</i>	
Изучение мутагенной активности CRISPR/Cas9 в дрожжевой модели	720
<i>А. Р. Шумега, Д. М. Девяткин, С. Г. Инге-Вечтомов, Е. И. Степченкова</i>	

Симпозиум 14: Дифференцировка и стволовые клетки Symposium 14: Stem Cells and Differentiation

Дополнительная хромосома клеток половой линии у зебровой амадины: особенности организации	722
<i>С. А. Галкина, О. Д. Такки</i>	
Кариотипические особенности эндометриальных мезенхимных клеток десквамированного эндометрия <i>in vitro</i>	723
<i>Т. М. Гринчук, М. А. Шорохова</i>	

Симпозиум 15: Проблемы селекции растений следующего поколения Symposium 15: Problems of Next Generation Plant Breeding

Оценка вариабельности гена <i>OsKAI2d</i> у заразики кумской	725
<i>М. К. Белова, М. А. Лебедева, Л. А. Лутова</i>	
Использование методов цифрового фенотипирования для детекции проявления аллельного состояния <i>TaNGR5-1B</i> у мягкой пшеницы	726
<i>А. А. Кочешкова, Т. Д. Мохов, Д. Ю. Литвинов, А. А. Ульянова, М. С. Баженов, Д. С. Ульянов, М. Г. Дивашук, Г. И. Карлов</i>	

Симпозиум 16: Регуляция действия гена и эпигенетика Symposium 16: Regulation of Gene Expression and Epigenetics

Экспрессия генов, кодирующих цитоскелетные белки, в очагах эндометриоза различной локализации	728
<i>Е. Ю. Горбачева, К. А. Тонян, Н. С. Бирюков, В. В. Бояринцев, И. В. Огнева</i>	
Ген <i>swiss cheese</i> <i>Drosophila melanogaster</i> и его роль в репродуктивной системе самцов	729
<i>Е. А. Иванова, Е. В. Рябова, Е. М. Латыпова, А. Е. Комиссаров, С. В. Саранцева</i>	
Специфичность антирестриктаз ArgA к ДНК-связывающим белкам	730
<i>А. А. Кудрявцева, А. А. Уткина, И. В. Манухов</i>	
Изучение генетических сетей, задействованных в ответ на витамин К и варфарин у <i>Drosophila melanogaster</i>	731
<i>А. И. Лавренова, И. В. Кукушкина, О. И. Клычников, Л. Н. Нефёдова</i>	
Исследование влияния проходящей транскрипции на связывание архитектурных белков с инсуляторами из <i>Bithorax</i> -комплекса дрозофилы	732
<i>Г. А. Манукян, О. В. Кырчанова, А. Н. Ибрагимов, О. Г. Максименко, П. Г. Георгиев, М. В. Тихонов</i>	



Характеристика повторяющихся элементов из геномов птиц	733
<i>А. Ф. Сайфитдинова</i>	
Специфичность антирестрикционного белка ArdV	734
<i>А. А. Уткина, А. А. Кудрявцева, И. В. Манухов</i>	
Система флуоресцентных сенсоров для исследования стрессового ответа микоплазм	735
<i>Е. А. Цой, Г. Ю. Фисунов, В. М. Говорун</i>	
Регуляция пектинолиза у <i>Pectobacterium versatile</i>	736
<i>М. А. Шарангович, Ю. В. Дюбо, А. В. Колубако, П. В. Вычик, А. В. Крук, У. А. Кравченко, Е. А. Николайчик</i>	

Симпозиум 17: Популяционная генетика

Symposium 17: Population Genetics

Молекулярная характеристика сортов вики посевной (<i>Vicia sativa</i> L.) на основе белковых, SSR- и SRAP-маркеров	738
<i>А. А. Антонов, И. А. Клименко, Э. Э. Езги, Т. Г. Александрова</i>	
Идентификация комаров рода <i>Anopheles</i> Черноморского побережья Кавказа молекулярно-генетическими и цитогенетическими методами	739
<i>А. Г. Бега, Д. Н. Логинов, Е. Ю. Ли, В. И. Панов, Б. В. Андрианов, И. И. Горячева, М. И. Гордеев, А. В. Москаев</i>	
Изучение генетической архитектуры в агро- и аквахозяйстве	740
<i>А. А. Белоус, П. И. Отрадный, А. А. Сермягин, Н. В. Бардуков, Н. А. Зиновьева</i>	
Использование RAPD-маркеров в исследовании полиморфизма горных популяций Одуванчика лекарственного (<i>Taraxacum officinale</i> Wigg.)	741
<i>З. И. Бисултанова, П. М. Джамбетова</i>	
Сравнение уровня идентификационной информативности двух аутомомных тест-систем при определении сложных случаев родства в популяциях коренных народов Российской Федерации	742
<i>К. В. Вагайцева, М. Е. Лопаткина, Н. А. Колесников, М. Д. Скалин, В. Н. Харьков, Л. В. Валихова, И. А. Волкова, В. А. Степанов</i>	
Хромосомный полиморфизм периферийных популяций малярийных комаров и расширение границ видовых ареалов на территории Карелии	743
<i>М. И. Гордеев, А. Г. Бега, В. И. Панов, В. П. Перевозкин, А. В. Москаев</i>	
Особенности генетико-демографических процессов в населении Москвы и Санкт-Петербурга	744
<i>А. С. Грачева, И. Г. Удина, О. Л. Курбатова</i>	
Влияние циркадного стресса у растений <i>Arabidopsis thaliana</i> на экспрессию <i>CCA1</i> – одного из ключевых генов циркадной сети	745
<i>М. В. Зарецкая, О. М. Федоренко</i>	
Межпоколенная трансформация популяционно-генетической структуры татар Сибири: изонимный подход	746
<i>Д. О. Имекина, М. В. Ульянова, З. А. Тычинских, М. Б. Лавряшина</i>	
Гаплотипы локуса <i>tRNA^{Leu}-COII</i> мтДНК в популяциях <i>Apis mellifera</i> на территории России	747
<i>М. Д. Каскинова</i>	
Разорванный ареал криптического вида теребеллид: связь между Белым и Северным морями	748
<i>А. А. Кудрявцева, У. С. Новоятлова, А. Г. Кесенних, Д. Р. Гаева, А. В. Власов, И. В. Манухов</i>	



Определение частоты гетерозиготного носительства наследственной моторно-сенсорной нейропатии 6С типа в якутской популяции	749
<i>А. А. Максимова, А. Л. Сухомясова, Н. Р. Максимова</i>	
Генетическая структура популяций криптических видов малярийных комаров Полесья и сопредельных территорий	750
<i>А. В. Москаев, Е. Ю. Ли, Д. Н. Логинов, А. Г. Бега, В. И. Панов, А. А. Темников, А. П. Белкова, Л. С. Бородин, Б. В. Андрианов, И. И. Горячева, М. И. Гордеев</i>	
Анализ генетического разнообразия азовской севрюги (<i>Acipenser stellatus</i>) в условиях ее низкой численности популяции	751
<i>Н. А. небесихина</i>	
Возраст мутации мукополисахаридоз-плюс синдрома в Республике Саха (Якутия)	752
<i>С. Н. Новгородова, Н. Р. Максимова, А. Л. Сухомясова</i>	
Барабинско-туражские сибирские татары: особенности генофонда по данным изучения Y-хромосомы	753
<i>А. Д. Падюкова, Д. О. Имекина, М. В. Ульянова, М. Б. Лавряшина</i>	
Генетический полиморфизм популяций <i>Chondrilla</i> Европейской России и прилегающих территорий в связи с особенностями системы семенного размножения	754
<i>А. С. Пархоменко, Т. А. Крицкая, А. С. Кашин</i>	
Молекулярные подходы к идентификации видов и гибридов <i>Spiraea</i> (Rosaceae) на популяционном уровне	755
<i>Т. А. Полякова</i>	
Цитогеография марей Европейской части России	756
<i>О. В. Разумова, Т. А. Федорова</i>	
Нетипично высокий уровень полиморфизма митохондриальной ДНК в популяциях наездника <i>Aprostocetus neglectus</i> (Hymenoptera: Eulophidae)	757
<i>Д. А. Романов</i> <i>Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН</i>	
Использование методов машинного обучения в идентификации породной принадлежности лошадей	758
<i>Э. А. Солошенкова, А. Д. Солошенков, В. Н. Воронкова</i>	
Спасти русского осетра. Природный полиморфизм и генетический мониторинг искусственного воспроизводства вида	759
<i>В. Д. Щербакова, А. Е. Барминцева, Н. С. Мюге</i>	

Симпозиум 19: Генетика старения, поведения и нейрогенетика
Symposium 19: Genetics of Ageing, Behavior and Neurogenetics

Уровень экспрессии гена <i>shaggy</i> , кодирующего высококонсервативную протекиназу GSK3, в жировой ткани влияет на ее свойства и выживание <i>D. melanogaster</i>	761
<i>Ю. А. Андреев, Е. Г. Пасюкова</i>	
Геропротекторные свойства растительного экстракта <i>P. grandiflora</i> на модели кинуреиновых мутантов дрозофилы	762
<i>Я. Н. Бобков, О. Н. Антосюк, В. В. Костенко</i>	
Генетический контроль геотаксиса у <i>Drosophila melanogaster</i>	763
<i>А. А. Гончарова, Ю. В. Брагина, Н. Г. Беседина, Н. Г. Камышев</i>	



Участие гена <i>limk1</i> в обучении и забывании у дрозофилы	764
<i>Е. С. Заломаева, Е. С. Егозова, А. В. Медведева, А. В. Журавлев, Е. А. Никитина</i>	
Экспрессия <i>CREB</i> и <i>AP-1</i> при формировании памяти у медоносной пчелы	765
<i>Т. Г. Зачепило</i>	
Долгосрочная динамика патологических изменений в поведении у крыс двух линий, селектированных по порогу возбудимости нервной системы, в ответ на хронический стресс ..	766
<i>А. С. Левина, Н. А. Дюжикова</i>	
Изменение активности сигнальных путей МАРК с возрастом как общий механизм патогенеза нейродегенеративных заболеваний	767
<i>Н. А. Муралёва, Н. Г. Колосова</i>	
Роль гена <i>sws/PNPLA6 Drosophila melanogaster</i> в поддержании гомеостаза нейронов и глиальных клеток	768
<i>Е. В. Рябова, Е. А. Иванова, А. Е. Комиссаров, С. В. Саранцева</i>	
Скорость замен в COX1 мтДНК, размер тела и поведение плотвы <i>Rutilus rutilus</i> (L.), леща <i>Abramis brama</i> (L.) и их реципрокных гибридов	769
<i>В. В. Столбунова, Ю. В. Герасимов</i>	
Репликативный анализ ассоциаций генетических локусов с манифестацией агрессивного поведения	770
<i>Д. В. Яковлева, А. В. Казанцева, Ю. Д. Давыдова, Э. К. Хуснутдинова</i>	

Симпозиум 20: Селекция и биотехнология микроорганизмов Symposium 20: Biotechnology and Breeding of Microorganisms

Влияние обработки семян биопрепаратами и внесения фосфорного удобрения на таксономическую структуру ризосферы <i>Coriandrum sativum</i> в различные фенофазы	772
<i>С. Ф. Абдурашитов, А. А. Кичко, К. С. Грицевич, А. И. Алексеева</i>	
Оценка субстратной активности бактериальных изолятов промышленных экотопов г. Уфы по отношению к имзапиру	773
<i>Л. Г. Анисимова, Н. В. Жарикова</i>	
Применение регуляторных элементов <i>lux</i> -регулона психрофильных морских бактерий	774
<i>С. В. Баженов, Е. С. Щеглова, И. В. Манухов</i>	
Метагеномный анализ микробиоты кишечника сельскохозяйственных животных России	775
<i>Ш. А. Бегматов, В. В. Кадников, А. А. Марданов, А. В. Белецкий, А. П. Лукина, Л. О. Соколянская, А. В. Ракитин, Л. Б. Глухова, О. В. Карначук, Н. В. Равин</i>	
Поиск предикторов биологической активности целлюлозолитических сообществ в их метагеномах	776
<i>Г. В. Гладков, А. К. Кимеклис, А. М. Афонин, Т. С. Аксенова, О. В. Орлова, Т. О. Лисина, Е. Е. Андронов</i>	
Сравнение эффективности штаммов дрожжей <i>Komagataella phaffii</i> как продуцентов рекомбинантных белков	777
<i>М. В. Гончарова, М. А. Родинова, С. А. Логинова, А. К. Диких, М. Е. Титова, У. Д. Врачёва, Е. А. Зиновьева, И. А. Петренко, С. И. Рыжкова, С. А. Бондарев, Е. В. Самбук, А. М. Румянцев</i>	
Разнообразие и биологические свойства ризобиофагов	778
<i>М. К. Горбунова, А. П. Козлова, А. С. Саксаганская, В. С. Мунтян, Б. В. Симаров, М. Л. Румянцева</i>	



Разработка модифицированных антимикробных пептидов путем нерационального дизайна	779
<i>Е. Н. Графская, В. А. Манувера, Д. Д. Харламбиева, В. Н. Лазарев</i>	
Поиск микроорганизмов – потенциальных антагонистов возбудителя бурой гнили картофеля	780
<i>Д. А. Доморацкая, М. В. Раменкова, Р. Н. Киракосян, С. И. Приходько</i>	
Биогенные металлсодержащие наночастицы с антимикробными свойствами как компоненты полимерных нанокомпозитов	781
<i>Т. А. Воейкова, О. А. Журавлева, Е. А. Никулина, Н. В. Цирульникова, А. С. Егоров, С. Н. Малахов, В. Г. Дебабов</i>	
Влияние дефицита фосфата на экспрессию генов в клетках дрожжей <i>Komagataella phaffii</i>	782
<i>В. В. Иштуганова, А. В. Сидорин, А. С. Макеева, Е. В. Самбук, М. В. Падкина, А. М. Румянцев</i>	
Метагеномный анализ микробного сообщества грязевого вулкана Керченского полуострова	783
<i>В. В. Кадников, Ш. А. Бегматов, А. В. Марданов, А. В. Белецкий, Н. В. Равин</i>	
Применение метода лазерной инженерии микробных систем для выделения эндофитных микроорганизмов из клубеньков арктических дикорастущих бобовых растений	784
<i>Д. С. Карлов, В. С. Чепцов, П. В. Гуро, А. Л. Сазанова, И. Г. Кузнецова, А. А. Белимов, В. С. Жигарьков, Н. В. Минаев, В. И. Юсупов, В. И. Сафронова</i>	
Новые пробиотические штаммы лактобактерий из ферментированного силоса	785
<i>А. Р. Каюмов, Е. В. Никитина, А. М. Ежкова, В. О. Ежков, Е. А. Гаврилова, Д. Р. Хуснутдинова, М. И. Маркелова, Д. Р. Яруллина</i>	
Сукцессия в микробном ассоциативном консорциуме БАГС	786
<i>А. К. Кимеклис, Г. В. Гладков, О. В. Орлова, Т. О. Лисина, Е. Е. Андронов</i>	
Геномный анализ как инструмент реконструкции бактериального метаболизма на примере <i>Achromobacter insolitus</i> LCu2	787
<i>Е. В. Крючкова</i>	
Влияние азотного голодания на экспрессию генов в дрожжах <i>Komagataella phaffii</i>	788
<i>А. С. Макеева¹, А. В. Сидорин¹, Е. В. Самбук¹, А. М. Румянцев¹</i>	
Противоопухолевый препарат на основе химерного белка L-метионин-γ-лиазы и S3 домена вирусного ростового фактора	789
<i>Н. А. Бондарев, Д. Ф. Багаева, М. М. Бубен, И. С. Охрименко, В. С. Покровский, И. В. Манухов</i>	
Характеристика штаммов дрожжей, используемых в отечественном виноделии, с помощью молекулярных методов	790
<i>А. В. Белецкий, Т. Н. Танащук, М. Ю. Шаламитский, Н. В. Равин, А. В. Марданов</i>	
Набор промоторов для настраиваемой суперпродукции ферментов в бактериях <i>Rhodococcus</i>	791
<i>А. Д. Новиков, А. О. Шемякина, Е. Г. Гречишников, Т. И. Калинина, К. В. Лавров, А. С. Яненко</i>	
Ответ клеток дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i> на синтез аптамеров РНК	792
<i>М. В. Падкина, У. Р. Аль Шанаа, А. В. Сидорин, Е. В. Самбук, А. М. Румянцев</i>	
Филогенетический анализ алкан монооксигеназ AlkB-типа бактерий рода <i>Rhodococcus</i>	793
<i>К. В. Петриков, Т. Н. Абрамова, И. Ю. Позднякова-Филатова</i>	
Поиск новых постбиотиков с использованием омиксных технологий для применения в аквакультуре	794
<i>Д. А. Резникова, А. А. Ватлин</i>	



Геномный анализ новых хозяйственно-ценных изолятов группы <i>Bacillus</i> , выделенных из различных географических регионов	795
М. Н. Романенко, А. Е. Шиков, А. А. Нижников, К. С. Антонец	
Путь метаболизма метанола у дрожжей как модель для изучения эволюции регуляторных систем	796
А. М. Румянцев, А. В. Сидорин, А. С. Макеева, Т. М. Яньшина, Е. В. Самбук, М. В. Падкина	
Изучение влияния пролина на экспрессию генов метилотрофных дрожжей <i>Komagataella phaffii</i>	797
А. В. Сидорин, Е. В. Самбук, А. М. Румянцев	
Микробные летучие органические соединения: биологическая активность и специфичность бактериального ответа на их действие	798
Д. Е. Сидорова, В. А. Плюта, Е. Н. Вагнер, О. Е. Мелькина, О. А. Кокшарова, И. А. Хмель	
Исследование регуляции транспорта аминокислот с разветвленным радикалом через цитоплазматическую мембрану <i>Escherichia coli</i> K-12	799
А. А. Степанова, Д. М. Бубнов, Т. В. Выборная, А. А. Хозов, С. В. Молев, О. Е. Мелькина, А. А. Привалова, С. П. Синеокий	
Высокопроизводительное секвенирование как универсальный инструмент оценки качества микробных биопрепаратов	800
М. Ю. Сыромятников, Е. Ю. Нестерова	
Влияние различных источников углерода на продукцию кантаксантина геномодифицированным штаммом дрожжей <i>Yarrowia lipolytica</i> ВКПМ-У-5210	801
И. М. Тарасов, М. О. Таратынова, Ю. М. Федяева, А. С. Федоров, Е. Ю. Юзбашева, С. П. Синеокий	
Улучшение экспрессии генов в <i>Corynebacterium glutamicum</i> с помощью 3`-нетранслируемого фрагмента ДНК	802
И. П. Токмакова, А. Я. Циберт, М. С. Потапова, К. В. Лавров, А. С. Яненко	
Генетический полиморфизм молочных дрожжей <i>Debaryomyces hansenii</i>	803
А. Ю. Туаева, А. М. Пономарева, Е. С. Наумова	
Эндофитные бактерий засухоустойчивых растений – антагонисты фитопатогенных грибов и бактерий	804
М. В. Худяева, В. К. Чеботарь, Е. П. Чижевская, О. В. Келейникова, М. Е. Баганова, А. В. Ерофеева, Р. Д. Костицын, О. В. Хонина, Н. Г. Лапенко, И. А. Тихонович	
Рибосомные промоторы <i>Yarrowia lipolytica</i> : сравнительный анализ и перспективы применения ..	805
А. А. Черенкова, О. Е. Мелькина	

ТЕЗИСЫ ПЛЕНАРНЫХ ДОКЛАДОВ

ABSTRACTS OF PLENARY LECTURES



Мультибелковые ядерные комплексы в регуляции экспрессии генов

С.Г. Георгиева¹

¹ ИМБ им. В.А. Энгельгардта РАН

В клетках эукариот мультибелковые комплексы управляют практически всеми стадиями экспрессии генов, включая регуляцию состояния хроматина, инициацию, элонгацию и терминацию транскрипции, процессинг мРНК, формирование мРНК частицы и экспорт мРНК из ядра. В докладе будут рассмотрены комплексы, работающие на разных стадиях экспрессии генов, основное внимание будет уделяться стадии ремоделирования хроматина и инициации транскрипции, а также ядерному экспорту мРНК. Будет рассмотрено, как формируются мультибелковые комплексы в клетке, как осуществляется их работа и скоординированное взаимодействие, организация транскрипционных конденсатов/фабрик. Будут рассмотрены данные о связи нарушения работы комплексов с заболеваниями человека и старением.



Изучая минимальную клетку: от системной к синтетической биологии

В.М. Говорун¹

¹ НИИ системной биологии и медицины Роспотребнадзора, Москва

vgovorun@sysbiomed.ru

Комплексность и сложность устройства живых клеток делает изучение их организации чрезвычайно трудной задачей. И чтобы хоть как-то упростить ее, исследователи используют в качестве модели минимальной клетки бактерии рода *Mycoplasma*. Они представляют собой организмы с редуцированным геномом.

Ранее ученые для понимания устройства, организации и регуляции клетки использовали системный подход, заключающийся в анализе изменений объекта на различные стрессовые воздействия с помощью «омиксных» технологий. В результате несколькими научными командами были построены различные модели организации микоплазм (*Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma genitalium*) [1, 2]. Последней из таких моделей на данный момент является 3D структурная модель минимальной клетки, построенная на базе *M. genitalium* [3]. Но все-таки такой системный подход не дает полной картины устройства клетки. И здесь на помощь приходит активно развивающаяся область — синтетическая биология. Одним из способов, с помощью которого исследователи могут проверить, понимают ли они биологическую систему, — это посмотреть, смогут ли они точно воссоздать ее в искусственном виде. В 2016 году группа исследователей под руководством К. Вентера разработала подход «снизу–вверх» для проектирования минимального генома и создания контролируемой им живой клетки [4]. В результате в реципиентных клетках была реализована генетическая программа донора. Но ключевым нюансом данного подхода является использование в качестве среды для репликации синтетического генома цитоплазмы, хоть и другой, но все же живой бактериальной клетки. Таким образом, остается пока открытым вопрос о составе и свойствах «контейнера», который необходим для реализации генетической информации в искусственной системе.

В свою очередь, наша исследовательская команда, используя в качестве модели бактерию *Mycoplasma gallisepticum*, тоже накопила большое количество знаний об устройстве минимальной клетки, уникальность которых заключается в представлении новых подходов к пониманию механизмов регуляции в микоплазмах и клеток в целом. Кроме того, для реализации подхода «снизу–вверх» по созданию искусственной клетки необходима технология синтеза и хранения больших геномных фрагментов. Этот этап был успешно нами реализован на примере сборки генома вибриофага №4 (38 тыс. п. о.). Следующий шаг — сборка более протяженных бактериальных геномных последовательностей. Эти результаты дают новые возможности для развития синтетической биологии в России и для понимания конструирования искусственной клетки.

- [1] Burgos R. et al. Protein quality control and regulated proteolysis in the genome-reduced organism *Mycoplasma pneumoniae* // Mol Syst Biol. 2020.
- [2] Karr J. R. et al. A whole-cell computational model predicts phenotype from genotype // Cell. 2012.
- [3] Maritan M. et al. Building structural models of a whole mycoplasma cell // J Mol Biol. 2022.
- [4] Hutchison C. A. et al. Design and synthesis of a minimal bacterial genome // Science. 2016.

Данная работа выполнена в рамках ГЗ № 1022040800170–3–1.6.23 Роспотребнадзора «Создание искусственных клеточных систем».



Коллекции генетических ресурсов сельскохозяйственных животных и их значение для развития науки и практического животноводства

Н.А. Зиновьева¹

¹ ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»
n_zinovieva@mail.ru

Коллекции генетических ресурсов сельскохозяйственных животных являются важнейшим объектом научной инфраструктуры, необходимым для сохранения, изучения и эффективного использования биоразнообразия. Ресурсы племенных животных, допущенных к использованию в сельскохозяйственном производстве, представлены сегодня 252 породами 31 вида скота, птицы, пушных зверей, кроликов и насекомых, а также 16 видами аквакультурных рыб. Коллекционные фонды генетических ресурсов сельскохозяйственных животных и их диких родственных видов *ex situ*, поддерживаемые в научных и образовательных организациях с сохранением функциональности единиц наследственности, насчитывают сегодня более 110 тысяч образцов генеративного материала (спермы и эмбрионов) и более 7 тысяч особей в «живом» разведении. Коллекции генетического материала, пригодного для полногеномных исследований, поддерживаются, по крайней мере, в 27 организациях различной ведомственной подчиненности. Самая крупная коллекция, насчитывающая более 300 тысяч образцов, находится в ФИЦ ВИЖ им. Л. К. Эрнста.

К сожалению, российские коллекции сельскохозяйственных животных пока существенно уступают ведущим зарубежным коллекциям как по количеству животных, от которых сохраняется генетически материал (в 15–100 раз), так и по числу сохраняемых образцов (в 4–12 раз). Причем такой большой разрыв образовался именно в последнее десятилетие в связи с проводимой в зарубежных странах системной работой по пополнению коллекций.

Следует отметить, что коллекции *ex situ* имеют не только научное значение, но и являются практически востребованными. Так, например, за последние 2 года с использованием материалов коллекции ФИЦ ВИЖ им. Л. К. Эрнста было получено и реализовано в АО «Головной центр по воспроизводству сельскохозяйственных животных» 11 племенных бычков трех отечественных пород, от которых сегодня накоплено более 10 тысяч доз семени. Это позволило не только снизить категорию риска пород, но и получить редкие генеалогические линии животных, востребованные в племенном деле.

Началом системной работы по сохранению генетических ресурсов сельскохозяйственных животных в форме *ex situ* должно стать создание на базе ФИЦ ВИЖ им. Л. К. Эрнста Национального центра генетических ресурсов сельскохозяйственных животных и их диких родственных видов.



Развитие генетических исследований в Беларуси

А.В. Кильчевский¹

¹ Президиум НАН Беларуси

kilchev-office@presidium.bas-net.by

Генетические исследования в Беларуси выполняются в учреждениях Национальной академии наук, Министерства образования и Министерства здравоохранения в рамках программ фундаментальных и прикладных исследований. Полученные результаты успешно внедряются в практику сельского и лесного хозяйства, здравоохранения, спорта, охраны окружающей среды, криминалистики. В области сельского хозяйства разработаны ДНК-маркеры для маркер-сопутствующей селекции (МАС) 15 сельскохозяйственных культур, проводятся исследования по созданию сортов картофеля, устойчивых к фитофторозу на основе CRISPR/Cas системы, внедрена технология МАС для свиньи домашней и КРС. Разработаны и используются методы ДНК идентификации осетровых, лососёвых и угревых рыб. В области лесного хозяйства выполнена оценка состояния популяционно-генетических ресурсов основных лесобразующих пород Беларуси, разработаны молекулярно-генетические методы диагностики и идентификации болезней и вредителей лесных древесных растений, с использованием технологии высокопроизводительного секвенирования проведены генетико-селекционные мероприятия по отбору деревьев с целевыми характеристиками.

В области генетики человека разработаны методы генетического тестирования предрасположенности к ряду заболеваний, генетические паспорта получили более 20 тысяч жителей Беларуси. Разработаны программы генетического тестирования в спорте для отбора и профилизации перспективных спортсменов, оценки риска профпатологий. Проводятся исследования в области фармакогенетики и генетики долголетия, генетики микробиома.

В области природоохранной деятельности развиваются методы баркодинга для генетической идентификации редких и исчезающих видов растений и животных, а также инвазивных видов.

Применяется биоинформатическая обработка данных генетического анализа. Созданы инновационные структуры, а также биобанки для хранения генетического материала.

Обсуждаются итоги выполнения программы Союзного государства «ДНК-идентификация», а также перспективы сотрудничества с российскими коллегами в области генетики в рамках новой программы «ДНК-идентификация-2».



Иммунные системы бактерий: увидеть вирус и умереть

А.В. Кульбачинский¹

¹ *Институт биологии гена РАН, Москва*

avkulb@yandex.ru

Различные типы иммунных систем бактерий способны защищать клетки на разных стадиях вирусной инфекции, препятствуя связыванию и проникновению вирусов, разрушая вирусные нуклеиновые кислоты, нарушая репликацию или сборку вирусных частиц. Исследования последних лет показали, что наряду с системами, напрямую атакующими вирус, существует множество защитных систем, которые вызывают гибель зараженной клетки, препятствуя распространению вируса в популяции. Ключевым событием при активации различных иммунных систем является распознавание вируса в ходе инфекции. Несколько типов защитных систем, включая CRISPR-Cas и белки-Аргонавты, непосредственно узнают вирусную ДНК или РНК, используя короткие комплементарные гидовые олигонуклеотиды. Такое узнавание может сопровождаться непосредственным расщеплением вирусной мишени. Однако многие CRISPR-системы и вновь открытые белки-Аргонавты способны вызывать суицидальный ответ клетки, действуя по механизму abortивной инфекции. В случае белков-Аргонавтов направленное гидом узнавание вирусной мишени приводит к активации дополнительных белков-эффекторов, нарушающих клеточный метаболизм, разрушающих мембрану или вызывающих неспецифическую деградацию клеточной и вирусной ДНК. Подобные системы являются важными участниками эволюционной гонки между вирусами и бактериями и могут служить инструментами для генетической инженерии и биотехнологии.

Работа выполнена при поддержке РФФ (22-14-00182).



Репарация ДНК в обеспечении стабильности генома и здоровья человека

О.И. Лаврик¹

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

lavrik@niboch.nsc.ru

Механизмы репарации ДНК относятся к числу основных стратегий, обеспечивающих сохранение целостности генома в процессе жизнедеятельности клетки. Дефекты систем репарации приводят к возникновению онкологических и нейродегенеративных заболеваний, а также старению. С другой стороны, активность репарации необходимо ингибировать для повышения эффективности действия ДНК-повреждающих агентов, используемых в онкотерапии. Ключевую роль в поддержании оптимального статуса систем репарации играют регуляторные белки. В докладе будет обсуждена роль поли(ADP-рибоза)полимераз 1 и 2 (PARP1/2) и их белков-партнеров в регуляции репарации ДНК, в том числе путем модификации гистонов при ремоделировании хроматина [1]. Будет рассмотрена роль РНК-связывающих белков, содержащих неупорядоченные домены, в первую очередь YB-1 и FUS, в регуляции активности PARP1/2. Белок YB-1, гиперэкспрессированный в некоторых агрессивных опухолях, стимулирует активность PARP1 [2] и может снижать действие антираковых препаратов — ингибиторов PARP. РНК-связывающий белок FUS локализуется вблизи повреждений ДНК при активации PARP1 и формирует немембранные компартменты с участием поли(ADP-рибозы), в которых концентрируются повреждения ДНК и белки репарации, что облегчает процесс репарации [3]. Важнейший партнер PARP1/2 — недавно открытый фактор PAR-илирования гистонов HPF1, обеспечивает специфичность модификации белков по остаткам серина и стимулирует PAR-илирование гистонов [4]. В докладе будет обсуждена стратегия создания ингибиторов PARP1/2, обеспечивающих специфическую регуляцию активности этих ферментов, а также эффективную и одновременно менее токсичную терапию онко — и нейродегенеративных заболеваний.

[1] *Alemasova E. E., Lavrik O. I. Nucleic Acids Res.*, 2019, **47**, 3811.

[2] *Naumenko K. N., Sukhanova M. V., Hamon L., Kurgina T. A., Anarbaev R. O., Mangerich A., Pastré D., Lavrik O. I. Front. Cell Dev. Biol.*, 2022, **10**, 831741

[3] *Mamontova E. M., Clément M. J., Sukhanova M. V., Joshi V., Bouhss A., Rengifo-Gonzalez J. C., Desforges B., Hamon L., Lavrik O. I., Pastré D. Cell Rep.*, 2023, **42**, 113119.

[4] *Kurgina T. A., Moor N. A., Kutuzov M. M., Naumenko K. N., Ukraintsev A. A., Lavrik O. I. Commun. Biol.*, 2021, **4**, 1259.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект 22-14-00112.



Молекулярно-генетическая диагностика как основа персонализированной терапии наследственных заболеваний человека

А.В. Поляков¹

¹ ФГБНУ «МГНЦ»

ДНК-диагностика моногенных заболеваний человека, появившаяся в 80 гг. 20 века, ставила своей целью определение причины наследственного заболевания в конкретной семье на уровне ДНК. Это позволяло делать прогнозы для членов семьи, включая проведение дородовой диагностики. Однако в последние годы целеполагание молекулярного анализа в семьях с отягощением моногенными заболеваниями существенно изменилось. На первое место по значимости и востребованности вышло определение патологического генотипа больного с целью подбора и назначения соответствующей таргетной терапии.

Таким образом, поскольку для этиотропной/таргетной терапии необходимо определение мутаций у конкретного больного, то это требует, в свою очередь, знания эпидемиологии наследственных заболеваний; знания спектра и частот мутаций конкретных генов в популяции РФ в целом и в конкретных регионах страны; наличия простых и информативных тест-систем для массового обследования пациентов с подозрением на заболевание.

Спектры мутация были определены для таких частых и социально значимых заболеваний, как спинальная амиотрофия, фенилкетонурия, муковисцидоз, миодистрофия Дюшенна/Беккера и др. На основе полученной информации созданы диагностические системы поиска мутаций в конкретных генах. В лаборатории ДНК-диагностики ФГБНУ МГНЦ им академика Н. П. Бочкова разработан и внедрен ряд программ селективного скрининга для различных групп моногенных заболеваний. В результате для более чем 2 000 больных определены генотипы, подходящие под назначение этиотропной/таргетной терапии.



Роль пространственной организации генома в регуляции транскрипции

А.К. Голов¹, А.А. Гаврилов¹, А.С. Штомпель^{1,2}, С.В. Ульянов^{1,2}, С.В. Разин^{1,2}

¹ Институт биологии гена РАН

² Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносова

sergey.v.razin@inbox.ru

Энхансеры были открыты более 40 лет назад, и с тех пор механизм их действия является предметом обсуждения. Современная модель предполагает, что на энхансере собирается некий активаторный комплекс, содержащий транскрипционные факторы и различные компоненты транскрипционного аппарата (РНК-полимеразу II, медиатор и др.). Далее компоненты этого активаторного комплекса каким-то образом переносятся на промотор. Соответственно, должен быть установлен некий канал связи между энхансером и промотором. Предложено несколько механизмов установления этого канала связи. Наиболее популярной является в настоящее время модель, постулирующая, что энхансер прямо контактирует с промотором в физическом пространстве клеточного ядра в результате выпетливания, разделяющего энхансер и промотор фрагмента ДНК. Эта модель получила прямые подтверждения по ходу изучения пространственной организации доменов альфа- и бета-глобиновых генов млекопитающих и ряда других геномных локусов. Однако универсальность модели вызывает вопросы в силу того, что на других локусах не наблюдается приближения энхансера к промотору по ходу активации энхансера. Результаты полногеномных исследований также не демонстрируют повсеместного установления пространственных контактов между энхансерами и активируемыми промоторами. Мы предположили, что это может быть связано с недостаточным разрешением полногеномных карт пространственной организации хромосом. В первой части лекции будут представлены результаты экспериментов, подтверждающих данное предположение. Мы разработали новый экспериментальный подход, позволивший построить полногеномные карты энхансер-промоторных контактов с разрешением в одну нуклеосому. Анализ данных карт убедительно продемонстрировал, что более 65% реально работающих энхансеров устанавливают пространственные контакты с активируемыми промоторами. Также было продемонстрировано, что большая часть энхансер-промоторных контактов формируется по независимому от инсуляторного белка CTCF пути.

Во второй части лекции будут представлены результаты изучения роли реконфигурации локуса кератиновых генов человека в контроле экспрессии этих генов по ходу дифференцировки кератиноцитов. Впервые продемонстрировано, что реконфигурация геномного домена в одной и той же популяции клеток коррелирует с активацией различных генов по ходу клеточной дифференцировки. В этой связи стоит отметить, что в эритроидных клетках различные конфигурации глобиновых локусов, связанные с активацией глобиновых генов эмбрионального, фетального и взрослого типов, реализуются в разных популяциях клеток. При работе с локусом кератиновых генов сделано и два других интересных наблюдения. Продемонстрировано, что (i) контакты между энхансерами и промоторами поддерживаются за счет формирования жидкофазных конденсатов и (ii) присутствие на промоторах задержанных комплексов РНК полимеразы II стабилизирует (усиливает) энхансер-промоторные контакты.

Работа поддержана грантом РФФИ № 21-64-00001.



Генетические технологии в развитии промышленной микробиологии

А.С. Яненко¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт», Курчатовский геномный центр, Москва

asyanenko@gmail.com

Современные штаммы микроорганизмов, применяемые в промышленной микробиологии, являются результатом сложнейших генетических манипуляций. Такие штаммы несут десятки различных мутаций, изменяющих стратегию жизни клетки и обеспечивающих сверхпродукцию отдельного метаболита. Решающий вклад в конструирование штаммов вносят методы индуцированной изменчивости (мутагенез, генная инженерия, методы редактирования), а в последние годы — методы синтетической биологии (синтез генов *de novo*). При этом именно методы геномного редактирования (системы бактериофаг-специфической рекомбинации, гомологичной рекомбинации и CRISP-Cas) отвечают современным требованиям по биобезопасности, а главное, являются наиболее мощным инструментом создания промышленных штаммов-продуцентов, обеспечивающих экономически-обоснованное производство продуктов с высоким рыночным потенциалом.

В докладе будут рассмотрены особенности разных систем редактирования для промышленно значимых видов микроорганизмов (коринебактерии, бациллы, энтеробактерии, дрожжи), представлены примеры создания в Курчатовском геномном центре штаммов — продуцентов клеточных метаболитов (аминокислоты, органические кислоты и каротиноиды) с использованием потенциала природного разнообразия и геномного редактирования, а также проанализированы текущее состояние и меры по ускоренному развитию промышленной микробиологии на основе глубокой переработки зерна в условиях благоприятной конъюнктуры.



Программа Союзного государства «ДНК-идентификация»: результаты взаимодействия российских и белорусских генетиков

Н.К. Янковский¹

¹ *Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва*
yankovsky@vigg.ru

В рамках научно-технической программы Союзного государства «Разработка инновационных гено-географических и геномных технологий идентификации личности и индивидуальных особенностей человека на основе изучения генофондов регионов Союзного государства» («ДНК-идентификация») российские и белорусские специалисты разработали и апробировали ДНК-технологии и методики идентификации личности и индивидуальных особенностей человека по его ДНК для применения в криминалистической и медицинской практике. Разработанные ДНК-технологии ориентированы на выявленные особенности генетических характеристик населения. Сформированы базы данных, отражающие генетические характеристики населения регионов Союзного государства и позволяющие определять по ДНК вероятный этнорегион происхождения, устанавливать риск формирования широко распространенных заболеваний (сердечно-сосудистых, эндокринных, аутоиммунных, костно-мышечных, онкологических и некоронарогенных заболеваний сердца), характеристики психоэмоционального статуса индивида. Сформированные базы данных не имеют аналогов по масштабу исследования групп населения Союзного государства. С учетом генетических особенностей населения регионов Союзного государства разработаны технологии определения внешних признаков (цвета глаз и волос) и возраста по ДНК. Для практического применения этих технологий разработаны наборы реагентов, позволяющие анализировать минимальные количества ДНК и превышающие по этим показателям мировой уровень.

Полученные результаты направлены на обеспечение независимости от импорта высоких технологий, предназначены для повышения достоверности и снижения трудозатрат при криминалистической идентификации личности неизвестных индивидов, имеют перспективное значение для развития фундаментальных и прикладных исследований и разработок в криминалистике (в области генетической идентификации различных биологических объектов) и медицине (в области персонификации подходов к профилактике, диагностики и лечения социально-значимых заболеваний) и рассчитаны на применение экспертами-криминалистами Следственного комитета и Научно-практического центра Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь, экспертно-криминалистическими подразделениями МВД, ФСБ и Следственного комитета Российской Федерации, а также для проведения дальнейших исследований в сфере криминалистики и медицины в интересах экономики и безопасности Союзного государства.

В реализации Программы участвовало 24 предприятия и организации генетического и медико-генетического профиля, специализирующихся в области геномных и судебно-экспертных исследований, а также научные учреждения и высшие учебные заведения России и Беларуси.

Ответственные исполнители Программы: от Российской Федерации — Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (ИОГенРАН), от Республики Беларусь — Государственное научное учреждение Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси (ИГиЦ НАНБ). Государственные заказчики программы — Министерство науки и высшего образования Российской Федерации и Национальная академия республики Беларусь. Решением Высшего Государственного Совета Союзного государства результаты программы отмечены премией Союзного государства в области науки и техники.



Integrative bioinformatics approaches towards modelling non-coding RNA interactome of the whole plant cell

Ming Chen¹

¹ *Zhejiang University, China*

mchen@zju.edu.cn

Crop breeding has entered a new era with the development of high-throughput technologies, such as genomics, transcriptomics, metabolomics, and phenomics. However, effectively utilizing these technologies requires integration of multi-omics data from different databases. The integration of omics data provides a comprehensive understanding of the biological processes underlying plant traits and their interactions. In this talk, we will first introduce DaTo — an integrative web portal for biological databases and tools that offers a user-friendly interface and provides extensible information on published bioinformatics resources. A graphical interactive web browser embedded into DaTo's front-end facilitates ontology-based semantic similarity relationships research among tools and databases. Next, we will emphasize the importance of integrating omics databases in crop plant breeding. We will discuss available omics data and databases, describe integrative bioinformatics challenges, and introduce our approaches to model complex coding and non-coding RNA (microRNAs, siRNAs, lncRNAs, ceRNAs, and circRNAs) involved biological systems at spatial and temporal scales. We will also utilize single-cell sequencing technologies to better understand the complexities and molecular mechanisms of the whole plant cell and their interactions. By integrating the currently emerging single-cell omics data and bulk-level regulatory networks, we hope to provide a more complete understanding of plant cell biology. The talk will attempt to provide insights into the integration of multi-omics data in plant breeding and demonstrate the power of integrative bioinformatics in developing a comprehensive understanding of biological processes and their interactions at different scales.

ТЕЗИСЫ СИМПОЗИАЛЬНЫХ ДОКЛАДОВ

ABSTRACTS OF TALKS

Симпозиум 1: Репликация, транскрипция, трансляция
Symposium 1: Replication, Transcription, Translation



Структура транскриптомов бактерий и метатранскриптомика патосистем

Ю.В. Гоголев¹, Т.А. Коннова¹, Е.В. Осипова¹, Н.Е. Гоголева², Х.Х. Хамо Хамаза², А.С. Балкин³

¹ Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук»

² Казанский (Приволжский) Федеральный университет

³ Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН

gogolev.yuri@gmail.com

Микроорганизмы сочетают компактные геномы со сложными транскриптомами, значительную долю которых составляют некодирующие РНК (нкРНК). Для некоторых бактериальных нкРНК показана функциональная роль в качестве регуляторов активности генов, либо компонентов системы иммунитета. Вместе с тем, функция большей части прокариотического транскриптома остается невыявленной. Также неясно, как большое разнообразие транскриптов генерируется при очень плотном расположении генов. Данное разнообразие является вызовом при проведении транскриптомных исследований прокариотических организмов. В случае метатранскриптомного анализа бактериально-эукариотных сообществ, в первую очередь патосистем, возникают дополнительные ограничения, связанные с подавляющим количеством РНК хозяина в тотальных препаратах.

Для изучения сложных транскриптомов были разработаны специальные подходы для обогащения РНК-библиотек первичными бактериальными транскриптами. С использованием метода Capable-Seq нами проведено секвенирование РНК патогенных бактерий *Pectobacterium atrosepticum* и *Salmonella enterica* непосредственно в тканях и клетках эукариотических организмов-хозяев — *Nicotiana tabacum* L. и *Acanthamoeba castellanii* Neff соответственно. В результате была охарактеризована дифференциальная активность транскрипции бактериальной РНК при развитии инфекции. Сайты инициации транскрипции (TSS) были картированы с точностью до одного нуклеотида. Также выполнено сопоставление активности TSS кодирующих и некодирующих РНК модельного штамма *Escherichia coli* K12 MG1655 при обработке антибиотиками, действующими на основные клеточные процессы. В результате удалось охарактеризовать транскриптомный контекст и полные транскриптомные ландшафты бактерий в данных условиях, показывающие закономерности распределения нкРНК в геноме и изменения их активности во взаимодействии с аннотированными оперонами и их функциональными элементами.

Работа поддержана РФФ, проект № 22-14-00317.



Конфликты транскрипции и репликации у бактерий и их последствия

Д.М. Есюнина¹, В.А. Пантелеев¹, Б.К. Годнеева¹, А.В. Кульбачинский¹

¹ Институт биологии гена Российской академии наук, Москва
es_dar@inbox.ru

В клетках бактерий основные молекулярно-биологические процессы тесно взаимосвязаны в виду отсутствия компартментализации. Быстрое деление клеток и постоянная репликация генома приводит к ошибкам, которые необходимо быстро детектировать и репарировать. Одновременно происходит транскрипция генов и трансляция синтезируемой мРНК. В связи с этим должны существовать механизмы, которые могли бы предотвращать и разрешать столкновения крупных молекулярных машин. В данной работе для детекции повреждений в геномной ДНК был применен новый подход с использованием бактериальных белков-Аргонавтов. Аргонавты бактерий используют короткие гидовые ДНК для узнавания и разрезания комплементарной ДНК-мишени. Было показано, что Аргонавты способны загружаться короткими ДНК из областей процессинга двуниевых разрывов в геноме и за счет своей каталитической активности усиливать локальную деградацию генома. Белки-Аргонавты совыделяются из клеток бактерий с короткими гидовыми ДНК, секвенирование которых позволяет воссоздать профиль сайтов процессинга ДНК в клетке. Для изучения конфликтов транскрипции и репликации нами были созданы штаммы *E. coli* с активно-транскрибируемыми генами, по-разному направленными относительно движения реплисомы, и делециями различных факторов транскрипции и репарации. Было показано, что «лобовые» столкновения реплисомы и РНК-полимеразы вызывают активный процессинг ДНК в области конфликтов. В отсутствие РНКазы H и факторов репарации ДНК активная транскрипция приводит к возникновению разрывов в ДНК даже в случае сонаправленных генов, в частности, в областях оперонов рРНК. Данные разрывы, вероятно, вызваны накоплением R-петель, которые в норме процессируются РНКазой H. В целом, полученные данные показывают, что конфликты транскрипции и репликации могут приводить к возникновению детектируемых с помощью белков Аргонавтов разрывов в геномной ДНК, а в клетках *E. coli* существуют механизмы, предотвращающие данные конфликты.

Работа выполнена при поддержке РФФ 24-44-00107.



Антибиотик Мадумицин II оказывает плеiotропное действие на рибосому

Шуленина О.В.¹, Пичкур Е.Б.^{1 2}, Толстыко Е.А.¹, Касацкий П.С.¹,
Полесскова Е.В.^{1 3}, Конева А.Л.^{1 2 3}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

² Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва, Россия

³ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

konevega_al@pnpi.nrcki.ru

Детальное выяснение молекулярных механизмов ингибирования антибиотиками дает возможность модифицировать существующие терапевтические препараты для повышения их эффективности и преодоления устойчивости бактерий. Проведенное нами исследование механизма действия ингибитора бактериальных рибосом Мадумицина II (Маду) с применением функциональных биохимических тестов и криоэлектронной микроскопии демонстрирует комплекс изменений в большом многокомпонентном аппарате биосинтеза белка, вызываемых данным антибиотиком.

Обычно ингибиторы рибосом пространственно препятствуют корректному расположению лигандов, ингибируя тем самым одну из парциальных реакций биосинтеза белка. Маду связывается с пептидилтрансферазным центром, смещая акцепторный конец Р-сайтовой тРНК, и блокирует пептидилтрансферазную реакцию. Логично было бы отнести Маду к ингибиторам пептидилтрансферазной реакции, но он действует по более сложному механизму. Мы обнаружили, что Маду аллостерически влияет на А-сайтовую тРНК, нарушая ее контакты с рибосомальной РНК, дестабилизируя все тело тРНК и вызывая диссоциацию на этапе пруфридинга.

Описанные изменения приводят к дезорганизации процесса трансляции: тРНК доставляется на рибосому, после чего часть молекул диссоциирует из А сайта вследствие дестабилизации, оставшаяся часть молекул тРНК не может корректно аккомодироваться и перевести пептидилтрансферазный центр в индуцированное состояние, облегчающее потенциальный перенос пептида. Отгибание акцепторного конца Р-сайтовой тРНК делает маловероятную в данной ситуации пептидилтрансферазную реакцию невозможной.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 22-14-00278.



Толерантность к повреждениям ДНК

А.В. Макарова¹

¹ Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

amakarova-img@yandex.ru

Многие повреждения ДНК вызывают остановку репликации, приводя к хромосомной нестабильности или гибели клеток человека. Кроме репарации существует несколько механизмов толерантности к повреждениям ДНК, позволяющим восстановить процесс репликации поврежденной ДНК. Одним из механизмов является транслезионный синтез ДНК. Остановка репликации вызывает убиквитинилирование фактора процессивности PCNA и переключение репликации с высокоточных Pol δ и Pol ϵ на специализированные ДНК-полимеразы, образующие многосубъединичный комплекс — трансесому. Pol η , Pol κ и Pol ι семейства Υ включают нуклеотиды напротив поврежденного участка, выполняя роль инсертера. Pol ζ семейства Ψ , состоящая из четырех субъединиц, продолжает синтез после поврежденного участка в качестве экстендера. Белок REV1 является ДНК-полимеразой семейства Υ , но играет прежде всего структурно-регуляторную роль, взаимодействуя одновременно с убиквитинилированным PCNA, Pol ζ и одной из полимераз семейства Υ . Однако REV1 также эффективно включает dCMP напротив ряда повреждений.

Альтернативным механизмом толерантности к повреждениям является синтез ДНК *de novo* после поврежденного участка с помощью ДНК-праймазы и ДНК-полимеразы PrimPol человека. PrimPol не взаимодействует с PCNA и для привлечения PrimPol к репликативной вилке необходимо взаимодействие с регуляторным белком RPA. С-концевой RPA-связывающий мотив (RBM) PrimPol играет роль в негативной регуляции фермента, препятствуя взаимодействию с ДНК. Полноразмерная молекула PrimPol находится в «выключенном состоянии». При удалении мотива RBM или при взаимодействии RBM PrimPol с RPA происходит «активация» и стимуляция взаимодействия PrimPol с ДНК.

PrimPol синтезирует ДНК *de novo* в цис-ориентации, когда N-концевой (NTD) и CTD одной и той же молекулы взаимодействуют для связывания субстратов и катализа. ZnFn мотив CTD стимулирует праймазную активность NTD, связывая 5'-трифосфатную группу инициаторного АТФ.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 23-14-00209.



Влияние невесомости на эпигенетическую регуляцию экспрессии генов

И. В. Огнева¹

¹ ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

iogneva@yandex.ru

Освоение дальнего космоса или других тел Солнечной системы, сопряженное с длительным пребыванием в условиях невесомости или измененной силы тяжести, а также периодическим действием перегрузок, требует разработки принципиально новых методов протекции организма человека. Большинство негативных изменений в условиях микро- или гипергравитации возникает на клеточном уровне, однако механизм рецепции измененной силы тяжести и трансдукция этого сигнала, приводящие к формированию адаптационного паттерна, до сих пор малоизучены.

На сегодняшний день не вызывает сомнений участие изменений внешнего механического поля в установлении паттернов экспрессии различных генов, в первую очередь кодирующих цитоскелетные белки и связанные с ними сигнальные каскады, но практически ничего не известно о том, каким образом это реализуется.

Проведенное нами исследование образцов тканей сердца и легких мышей, которые были зафиксированы через 37 суток космического полета на борту Международной космической станции, показало, что тотальный уровень метилирования ДНК увеличивается на 20–30% в условиях невесомости (Ogneva I. V. et al., 2018). В модельных экспериментах на Земле при антиортостатическом вывешивании мышей было показано, что в условиях изменения внешнего гравитационного поля в сердце и легких увеличивается уровень метилирования CpG-островков в промоторных областях генов, кодирующих цитоскелетные белки, также, как и тотальный уровень метилирования генома в отсутствие изменений содержания 5-гидроксиметилцитозина. Противоположное направление имеют эпигенетические изменения в семенниках: метилирование CpG-островков падает, так же, как и метилирование генома в целом. Несмотря на различия в статусе метилирования, во всех исследованных тканях имело место снижение содержания как метилаз, так и деметилаз, регуляция эффективности которых определяется, в том числе, деацетилазой HDAC. Действительно, содержание HDAC растет в сердце и легких, что, возможно, способствует установлению наблюдаемого гиперметилованного состояния. Тем не менее в семенниках установление гипометилованного состояния имело место раньше, нежели последующие изменения содержания HDAC1, что позволяет предположить, например, регуляцию по типу обратной связи — снижение уровня метилирования приводит к снижению содержания HDAC для поддержания гипометилованного статуса (Loktev S. S., Ogneva I. V., 2019).

С другой стороны, у плодовой мушки *Drosophila melanogaster*, в условиях как реальной, так и моделируемой невесомости, также имеют место изменения экспрессии генов, кодирующих цитоскелетные и метаболические белки на фоне изменения уровня ацетилирования и метилирования гистонов (Usik M. A. et al., 2021; Ogneva I. V., 2022, 2023; Ogneva I. V. et al., 2023). Учитывая, что эволюция всех живых организмов на Земле происходила в условиях постоянного действия силы тяжести, то механизм ее рецепции может быть одним из самых древних, что позволяет осторожно предполагать ведущую роль модификаций гистонов в установлении паттернов экспрессии генов в условиях невесомости.

Работа поддержана программой фундаментальных исследований ГНЦ РФ — ИМБП РАН FMFR-2024–0041 и финансированием Госкорпорации «Роскосмос».



Пост-транскрипционные модификации внутриклеточных и секретируемых бактериями РНК

О.Н. Озолин¹, К.С. Шавкунов¹, Н.П. Кольжецов¹, Н.Ю. Маркелова¹

¹ ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пушкино

ozoline@rambler.ru

История изучения бактериальных РНК-секретомов началась около 10 лет назад, и интерес к внеклеточным олигонуклеотидам постепенно растёт в связи с перспективной возможностью создания на их основе антимикробных препаратов адресного действия. Фрагменты бактериальных РНК уже обнаружены в различных биологических жидкостях, включая кровь человека, что свидетельствует о возможности выполнения ими каких-то важных функций за пределами клетки. Кроме размера (16–40 нуклеотидов) секретируемые олигонуклеотиды отличаются от внутриклеточных РНК профилем распределения по транскриптам и менее эффективным картированием на геном. Это предполагало наличие какого-то механизма селекции коротких РНК для секреции и, возможно, специфичных для них модификаций. Поэтому основной задачей данного исследования был поиск РНК кишечной палочки (*E. coli* MG1655) с зависимой от потенциального транспортного белка секрецией и сравнительный анализ их контекста внутри и вне клеток.

Подход, использованный для поиска целевых РНК, был основан на предположении, что одним из их экспортёров может быть белок нуклеоида Dps, обнаруженный нами на поверхности бактериальных клеток и имеющий высокое сродство к ДНК и РНК. С использованием делеционного мутанта *E. coli* по гену *dps* и прямого секвенирования на платформе Ion Torrent PGM, было найдено 111 типов РНК, содержание которых в секретоме мутантного штамма уменьшалось, а в клеточном транскриптоме не изменялось или увеличивалось по сравнению со штаммом дикого типа. Среди них оказалось много РНК, синтезируемых из межгенных участков (29,5%) и фрагментов тРНК (23,5%). Контексты продуктов 39 геномных локусов были исследованы на предмет поиска отклонений от хромосомной последовательности. В число отслеживаемых отличий входили: нематричные нуклеотиды на 5'- и 3'-концах, мисматчи, вставки и делеции (indels), а также химеры. В результате в секретоме оказалось больше фрагментов РНК, содержащих мисматчи, некоторые из которых преимущественно появлялись в одном и том же месте (замена G в позиции 58 на A в тРНК TrpT). Это может указывать на редактирование некоторых РНК перед экспортом, но очень малый процент прочтений с мисматчами (0,86%) не может объяснить наблюдаемый дефицит картирования. Процент РНК с нематричными нуклеотидами на концах и число химер, в РНК-секретоме, наоборот, оказались меньше, чем внутри клеток. Это свидетельствует о существовании механизма преимущественной секреции немодифицированных РНК с участием Dps, а также о том, что существуют другие пути экспорта РНК, которые создают пул некартируемых РНК во внеклеточной среде.

Незапланированным результатом этого анализа стало обнаружение двух типов модификаций, присутствующих и внутри, и снаружи клеток. Во-первых, это следы циклизации некоторых РНК, выявленные по пермутациям в линейных олигонуклеотидах. Синтетические аналоги линейной, пермутированной и кольцевой форм транскрипта из межгенной области *fimA-fimI* оказались способными проникать в клетки *E. coli* Dps-зависимым образом, ингибировать их рост и с разной эффективностью сорбировать на себя белки в эксперименте pull-down. Множество функций, выполняемых кольцевыми РНК в клетках эукариот, позволяет надеяться на наличие не менее важной биологической роли и у бактериальных аналогов. Возможная биологическая роль 19-меров тРНК LeuTVPQU, содержащих протяжённые удлинения случайными последовательностями, пока малопонятна, но на основе кольцевых РНК, естественным образом защищённых от экзонуклеолиза, и «универсальных гидов» для эндонуклеолиза могут быть созданы «программируемые» антибиотики нового поколения.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (гранты №№ 18-14-00348 и 18-14-00348-П).



hTERT-сенсор или регулятор пролиферации и метаболизма клеток?

М.П. Рубцова¹, М.С. Корягина¹, Т.Е. Пахомова², М.А. Шамонова¹, О.А. Донцова¹

¹ МГУ имени М.В. Ломоносова

² ИБХ РАН

mprubtsova@gmail.com

В процессе репликации линейных хромосом эукариот происходит потеря 3'-концевых участков из-за удаления РНК-затравки и действия эндонуклеаз. Концевые участки хромосом — теломеры — состоят из повторяющихся коротких последовательностей, защищающих клетки от потери генетической информации. Чрезмерное укорочение теломер свидетельствует о множестве раундов деления и активирует программу гибели клеток. Для поддержания пролиферативного потенциала клетки активируют фермент теломеразу, обратная транскриптаза которой достраивает теломерные повторы, используя собственный РНК-компонент в качестве матрицы. В клетках обнаружены несколько изоформ, образующихся при экспрессии гена теломеразной РНК человека: наиболее представленная является компонентом теломеразы, а более длинная выступает в качестве мРНК, кодирующей белок hTERT. Белок hTERT участвует в регуляции аутофагии и апоптоза и способствует выживанию клеток в условиях стресса.

Интересным является вопрос о взаимосвязи процессинга теломеразной РНК и метаболизма клеток. Активно пролиферирующие клетки требуют функционирования теломеразы, а, следовательно, процессинга теломеразной РНК. В то же время клетки переключают метаболизм в сторону гликолиза. Непролиферирующие клетки не требуют функционирования теломеразы, что должно способствовать накоплению hTERT, а метаболизм таких клеток зависит от окислительного фосфорилирования. Таким образом, можно предположить, что hTERT может быть переключателем или сенсором метаболизма и пролиферации клеток.

Исследования проводятся при поддержке РФФИ (21-64-00006).



Редактирование генома мышей от фундаментальной науки к персонализированной медицине

П.В. Сергиев¹

¹ НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ имени М.В. Ломоносова
petya@genebee.msu.ru

Для исследования функциональной роли генов, особенно генов, функция которых неизвестна, и генов, мутации в которых предположительно вызывают предрасположенность к заболеваниям, необходимо создавать модельных животных, в которых исследуемые гены инактивированы. Сейчас технология редактирования геномов шагнула вперед благодаря возможности использования системы CRISPR/Cas.

В МГУ успешно функционирует группа по редактированию генома мышей, создавшая несколько десятков линий с измененным геномом. В докладе будет отражен опыт создания таких мышей для исследования генов с неизвестной функцией, а также опыт сотрудничества с медицинскими генетиками по созданию персонализированных мышей, несущих мутации, воспроизводящие мутации пациентов.



Братство кольца: SMC-комплексы как машины для формирования петель ДНК

С.В. Ульянов¹

¹ Институт биологии гена Российской академии наук

sergey.v.ulyanov@gmail.com

Белки группы SMC (Structural Maintenance of Chromosomes) — одни из самых древних и консервативных АТФаз, они найдены у всех клеточных форм жизни. При димеризации SMC-белков с участием других белков-партнёров образуются сложные кольцеобразные комплексы (наиболее известны эукариотический когезин и конденсины), которые за счёт энергии гидролиза АТФ способны протягивать нить ДНК. Этот процесс называется экструзией и, согласно современным представлениям, является одним из основных механизмов коммуникации регуляторных элементов в геномах позвоночных. Барьерами для экструзии служат некоторые ДНК-связывающие белки, напрямую взаимодействующие с SMC-комплексами (CTCF в случае когезина млекопитающих), а также фазовые конденсаты и элонгирующая РНК-полимераза II. Торможение или остановка экструзии на таких барьерах в энхансерах и промоторах приводит к формированию хроматиновых петель между ними. В недавнем исследовании динамики пространственной структуры генома *Danio rerio* в ходе раннего эмбрионального развития мы продемонстрировали, что энхансеры, оккупированные пионерскими транскрипционными факторами, могут быть точками загрузки когезина на хроматин. Двусторонняя экструзия из точки загрузки приводит к формированию особого типа пространственных структур хроматина — фонтанов. Мы обнаружили их в геноме *Danio rerio* после активации зиготической транскрипции, а также в ряде других модельных организмов, в том числе в эмбриональных стволовых клетках мыши.

Работа поддержана грантом РФФ №21-64-00001.



Синтез ДНК-полимеразами на субстратах с модифицированными АП-сайтами

А.В. Юдкина¹

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

yudkinaanya@gmail.com

Основания ДНК могут быть утеряны в ходе спонтанного гидролиза *N*-гликозидной связи в водном растворе, в результате чего образуются апурин-апиримидиновые сайты (АП-сайты). АП-сайты — наиболее частые спонтанные повреждения ДНК, возникающие ежедневно в количестве около 20 000 на клетку при нормальном клеточном метаболизме и в еще большем количестве при генотоксическом стрессе. АП-сайты высокотоксичны и высокомутagenны для клетки. При достижении АП-сайта ДНК-полимеразы сильно блокируются либо катализируют ненаправленное включение нуклеотида напротив АП-сайта вследствие неcodирующей природы повреждения. Кроме того, АП-сайты крайне электрофильны и охотно реагируют с нуклеофильными группами различных соединений, образуя новые аддукты, мутагенный потенциал которых еще предстоит изучить.

ДНК постоянно ассоциирована с широким набором разнообразных белков, в результате чего могут образовываться ДНК-белковые сшивки (ДБС) с АП-сайтами, взаимодействие которых с репликативным аппаратом не до конца выяснено. Далее, в клетке ДБС подвергаются протеолитической деградации до небольшого пептида, который предположительно должен проходиться ДНК-полимеразами, однако этот процесс ранее не был изучен вообще. Кроме того, АП-сайты в клетке постоянно окружены низкомолекулярными нуклеофильными соединениями, например, полиаминами, однако возможность модификации АП-сайтов этими соединениями и последствия образования такого рода аддуктов для репликативного аппарата клетки ранее не были показаны. Наконец, модификация АП-сайтов нуклеофильными ксенобиотиками уже используется в терапии онкологических заболеваний за счет ингибирования репарации АП-сайтов, однако кодирующие свойства образовавшихся аддуктов также не изучены.

В связи с этим в рамках настоящей работы исследована возможность модификации АП-сайтов нуклеофильными агентами разной природы: белками, пептидами и низкомолекулярными агентами эндогенного (полиамины) и экзогенного происхождения (метоксиамин). Получены и охарактеризованы аддукты АП-сайтов с перечисленными соединениями, изучены их блокирующие и мутагенные свойства для ДНК-полимераз разных семейств, вовлеченных в разные клеточные процессы. Показано, что АП-сайты очень эффективно модифицируются нуклеофильными соединениями, что меняет не только их блокирующие и мутагенные свойства, но и оказывает большое влияние на механизмы репарации, что заставляет взглянуть в ином ключе на такой распространенный тип повреждений, как АП-сайты.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, грант № 23-74-10040.

Симпозиум 2: Экологическая генетика и генетическая токсикология
Symposium 2: Ecological Genetics and Genetic Toxicology



Семилетний опыт использования бактериальных lux-биосенсоров в генотоксикологических исследованиях

С.К. Абилев¹, С.В. Смирнова¹, Е.В. Игонина¹, Д.А. Кашатникова¹

¹ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва
abilev@vigg.ru

Бактериальные биосенсоры представляют собой организмы, которые отвечают на воздействие факторов окружающей среды, и этот ответ можно количественно зарегистрировать и интерпретировать как определенную биологическую активность фактора воздействия. Целью данной работы была оценка применимости бактериальных lux-биосенсоров в генотоксикологических исследованиях. Были использованы люминесцирующие бактерии *E.coli*, несущие рекомбинантную плазмиду с lux-опероном люминесцентной бактерии *P. luminescens*, слитым с промоторами индуцируемых генов: *recA*, *dinI*, *colD*, *alkA*, *soxS* и *katG*. Они были созданы в результате исследований по идентификации и секвенированию генов, контролирующих синтез белков, входящих в сигнальные системы бактерий. Нами на наборе трех биосенсоров: pSoxS-lux, pKatG-lux и pColD-lux была протестирована генотоксичность 47 химических соединений с целью оценки их ДНК-повреждающей активности и способности вызывать окисление оснований ДНК. Сравнение полученных результатов с данными о мутагенной активности этих соединений в тесте Эймса показали полное совпадение результатов для 42 веществ. Оказалось, что высокая чувствительность биосенсоров позволяет изучать модифицирующее действие одних химических соединений на генотоксичность или на способность образовывать в клетке окисляющих агентов (супероксид анион-радикал и перекиси) других соединений. Это позволило впервые установить усиливающее действие тяжелого нерадиоактивного изотопа водорода, дейтерия (D₂O), на генотоксичность 16 веществ с изученными механизмами мутагенного действия на бактерии при использовании биосенсоров: pRecA-lux, pDinI-lux и pColD-lux. Это указывает на то, что при повреждении ДНК генотоксичными агентами дейтерирование усиливает экспрессию генов, относящихся к системе SOS-репарации ДНК. Исследование влияния D₂O на экспрессию генов *ada*, *alkA* и *luxA* *Escherichia coli*, индуцированную метилметансульфонатом методом ОТ-ПЦР, подтвердило потенцирующее действие дейтерия на генотоксичность повреждающих ДНК агентов. Изучение модифицирующего действия 29 антиоксидантов и радиопротекторов на генотоксические эффекты химических агентов показало применимость пары биосенсоров pSoxS-lux и pKatG-lux для первичной оценки потенциальной антиоксидантной и радиозащитной активности химических соединений. Таким образом, полученные результаты показали, что lux-биосенсоры *E.coli* могут быть успешно использованы для идентификации потенциальных генотоксикантов, радиопротекторов, антиоксидантов и комутагенов среди химических соединений, а также для изучения вероятного механизма генотоксического действия тестируемых веществ. Использование различных биосенсоров и их мутантов позволило установить особую роль бактериальной нитроредуктазы в бактерицидности и генотоксичности антибактериального препарата диоксидина.



Влияние позиции нуклеотидов sgRNA, некомплементарных целевой последовательности, а также последовательности сайта PAM на эффективность Cas9

Д. М. Девяткин¹, А. Р. Шумегга¹, Е. И. Степченкова^{1, 2}

¹ Санкт-Петербургский государственный университет

² Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН

dimi02121@gmail.com

Система адаптивного иммунитета прокариот CRISPR/Cas9 является удобной платформой для создания молекулярно-генетических инструментов редактирования генома. Комплекс для редактирования состоит из эндонуклеазы Cas9 и направляющей РНК (sgRNA). Привлечение Cas9 в сайт редактирования осуществляется благодаря комплементарному взаимодействию sgRNA с целевым сайтом генома (20 п. о.), который с 3'-конца ограничен последовательностью NGG, называемой PAM. Cas9 вносит двуцепочечный разрыв в пределах целевой последовательности на расстоянии 3 п. о. от PAM. Редактирование происходит в ходе последующей репарации ДНК. Несмотря на относительно высокую специфичность, Cas9/sgRNA может связываться с сайтами, не полностью комплементарными sgRNA. Это приводит к появлению мутаций в нецелевых сайтах. Поэтому исследование причин и механизмов неспецифической активности редактирующих систем является актуальной задачей. Ранее было показано, что позиции оснований sgRNA, некомплементарных целевому сайту, по-разному влияют на эффективность белка Cas9 [1]. Целью данной работы является изучение влияния позиции некомплементарных оснований sgRNA на эффективность Cas9 в присутствии различных сайтов PAM: GGG, CGG, AGG и TGG на модели дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

На основе базового штамма LAN201 [2], ауксотрофного по лейцину, мы получили изогенные штаммы с одним из четырех PAM в репортерном гене *URA3*. В качестве вектора для доставки генов Cas9 и sgRNA использовали плазмиду pML107-GAL1, сконструированную нами на основе плазмиды pML107 [3] и содержащую ген *Cas9* под индуцируемым галактозой промотором GAL1. Штаммы, несущие один из альтернативных вариантов PAM, трансформировали плазмидами pML107-GAL1, содержащими последовательности sgRNA с одиночными заменами. Эффективность Cas9 оценивали по снижению выживаемости трансформантов из-за токсичного влияния вносимых двуцепочечных разрывов. Степень влияния позиции некомплементарных оснований оценивали как относительную выживаемость трансформантов по сравнению с трансформантами, несущими контрольную плазмиду без *Cas9* и последовательности sgRNA. По предварительным данным, совместная экспрессия *Cas9* и sgRNA значительно снижает выживаемость трансформантов.

Поддержано грантом РФФИ 20-15-00081.

1. Zheng et al. Scientific reports. 2017. Т. 7. № 1. С. 40638.
2. Lada et al. PLoS genetics. 2013. Т. 9. № 9. e1003736.
3. Laughery & Wyrick. Current protocols in molecular biology. 2019. Т. 129. № 1. e110.



Изучение биоразнообразия водоплавающих птиц с помощью методов, основанных на детекции свободной ДНК в водной среде

А.Г. Демин¹, С.А. Галкина¹, А.В. Ильина¹, Д.А. Стариков², А.Ю. Скрипниченко¹, О.Д. Такки¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург

² Нижне-Свирский государственный природный заповедник, г. Лодейное Поле

rustle.reed@gmail.com

До настоящего времени мониторинг биоразнообразия водоплавающих и околоводных птиц базируется на классических методах прямого визуального наблюдения. Эффективность такого подхода ограничивается рядом естественных факторов — погодными условиями, длиной светового дня, а также лимитом времени и числа наблюдателей. Новым подходом, способным расширить возможности мониторинга водных экосистем, за последнее десятилетие стал метод анализа так называемой экологической или экосистемной ДНК (эДНК) в воде.

Первые серьезные публикации, направленные на изучение возможности мониторинга птиц с использованием метода eDNA, начали появляться только с 2018 года (Ushio et al., 2018; Schutz et al., 2020; 2021, Mojica et al., 2021, Saenz-Agudelo et al., 2021). Полученные данные указывают на перспективность применения эДНК для регистрации присутствия наземных позвоночных на открытых водоемах.

В ходе проведенного исследования был изучен потенциал применения эДНК для регистрации водоплавающих птиц в Свирском заливе Ладожского озера. Отбор проб воды выполнялся в период весенней и осенней миграции каждые 7 дней в трёх стационарных точках в районе Ладожской орнитологической станции (Нижне-Свирский заповедник). В течение всего периода пробоотбора ежедневно проводились визуальные учеты орнитофауны на акватории проведения работ. Из каждой точки отбирали и фильтровали через мембранные МСЕ фильтры по 1,8 литра природной воды по 2 литра фонового контроля (дистиллированная вода). Фильтры консервировали в 96% этилом спирте. Выделение ДНК проводили с использованием магнитных частиц и колонок для избавления от гумусовых кислот. Полученные образцы эДНК использовались для детекции видоспецифичных фрагментов митохондриальных генов 12S, 16S рРНК и COI птиц методом метабаркодирования с использованием нанопорового секвенирования. Результаты исследования продемонстрировали перспективность применения эДНК как инструмента для косвенной регистрации скрытого биоразнообразия различных групп позвоночных на больших открытых водоемах с высоким содержанием гумусовых кислот.

Все этапы пробоподготовки выполнялись на базе ресурсных центров «Хромас», «Развитие молекулярных и клеточных технологий» и «Центр Биобанк» Научного парка СПбГУ (г. Санкт-Петербург).

1. Ushio M., Murata K., Sado T., et al. Demonstration of the potential of environmental DNA as a tool for the detection of avian species // Scientific reports. 2018. 8(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22817-5>;
2. Schütz R., Tollrian R., Schweinsberg M. A novel environmental DNA detection approach for the wading birds *Platalea leucorodia*, *Recurvirostra avosetta* and *Tringa tetanus* // Conservation Genetics Resources. 2020. 12(4), 529–531. <https://doi.org/10.1007/s12686-020-01143-x>;
3. Mojica L., Diego J., Caballero S. Applications of eDNA metabarcoding for vertebrate diversity studies in northern Colombian water bodies // Frontiers in Ecology and Evolution. 2021. P. 522;
4. Saenz-Agudelo P., Delrieu-Trottin E., DiBattista J. D., et al. Monitoring vertebrate biodiversity of a protected coastal wetland using eDNA metabarcoding // Environmental DNA. 2021. <https://doi.org/10.1002/edn3.200>.

Работа поддержана грантом РНФ № 22-74-10043.



Генотоксикология в аспекте защиты здоровья человека

А.Д. Дурнев¹, А.К. Жанатаев¹

¹ ФГБНУ федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий, Москва, РФ

addurnev@mail.ru

Ведущими источниками генотоксических повреждений в соматических, половых и эмбриональных клетках являются химические генотоксиканты, способные вызывать предмутационные повреждения ДНК, которые имеют самостоятельное патологическое значение и/или приводят к возникновению мутаций.

Предупреждение контакта человека с генотоксикантами является наиболее конструктивной, но недостаточной мерой защиты генома, поскольку не обеспечивает полное исключение генотоксических воздействий. Помимо прочего, генотоксическую опасность могут также представлять естественные метаболиты организма — продукты окислительного стресса, который возникает при чрезмерных психоэмоциональных и физических нагрузках, сопровождается большим числом соматических и инфекционных заболеваний.

Методическое и методологическое обеспечение генотоксического скрининга и мониторинга требует совершенствования. Это касается разработки способов регистрации генных мутаций в эукариотических клетках, скрининга генотоксикантов в половых и эмбриональных клетках, разработки методов выявления вертикального переноса элементов биотехно-логических генетических конструкций, применения генотоксических тестов для предикции канцерогенеза и тератогенеза и т. д.

Генотоксическим воздействиям можно препятствовать с помощью антигенотоксикантов (антимутагенов), веществ, увеличивающих устойчивость соматических и половых клеток к генотоксическим воздействиям.

Выявлено большое количество синтетических и природных антигенотоксикантов, сформулированы и успешно апробированы основные принципы их направленного поиска, найдены уникальные антигенотоксиканты, активные в широком диапазоне дозировок и не обладающие нежелательной дозозависимой инверсией защитных эффектов в повреждающее действие, показана возможность полного купирования генотоксических эффектов в эксперименте и клинике, установлена эффективность антигенотоксического действия в различных типах клеток и т. д. Принципиально, что лекарственные и пищевые антимутагены, выявленные и исследованные в России, существенно превосходят по эффективности, безопасности и доступности известные зарубежные аналоги. Накопленные результаты указывают на перспективность широкого применения фармакологических и нутрициологических подходов к антимутагенной защите здоровья человека.



Совершенствование метода оценки обратных генных мутаций на бактериях

О.В. Егорова¹, Ю.В. Ревазова¹, Н.А. Илюшина¹

¹ ФБУН «Федеральный научный центр гигиены имени Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, г. Мытищи, Россия

egorova.ov@fncg.ru

Метод оценки обратных генных мутаций на бактериях является одним из широко используемых краткосрочных тестов для выявления потенциальной мутагенности и канцерогенности факторов среды. Существующие в Российской Федерации методические указания и рекомендации по проведению теста Эймса, датированы 1977–1986 гг. и не учитывают изменения, сделанные по мере накопления практического опыта. Также тесту присущ ряд ограничений, связанных как с особенностями тест-систем *in vitro*, так и невозможностью оценки мутагенности некоторых химических веществ, обладающих цитотоксичностью, что является критичным в случае оценки эквивалентности технических продуктов пестицидов-дженериков продукту оригинатора. ГОСТ 32376–2013 предоставляет минимум информации о подходах к интерпретации данных. В случае пограничных эффектов возможны разные выводы о наличии или отсутствии мутагенности объекта испытаний в зависимости от выбранных критериев.

Для повышения качества, надежности и объективности оценки генетической опасности химических веществ нами унифицирован и усовершенствован метод оценки обратных генных мутаций на бактериях с учетом ограничений, присущих данному тесту, в т. ч. и в миниатюризированном формате. Описаны культурально-морфологические и биохимические свойства индикаторных культур, оценена их применимость в качестве дополнительных маркеров аутентичности. Для увеличения чувствительности метода при тестировании продуктов-дженериков получены новые резистентные мутантные штаммы индикаторных культур *Salmonella typhimurium* для выявления мутагенности некоторых цитотоксичных пестицидов (Патент № 2023131912). Разработан новый способ оценки мутагенности химических веществ из классов сульфонилмочевин и триазолпиримидинов, обладающих цитотоксичностью по отношению к бактериям, за счет обогащения селективной среды изолейцином (Патент № 2794797).

Оценка применимости разных критериев интерпретации результатов с использованием собственных экспериментальных данных показала, что в качестве критериев биологической значимости в тесте Эймса целесообразно использовать не только консервативный подход, основанный на правиле кратности, но и проводить сопоставление с данными диапазонов исторического отрицательного лабораторного контроля.

Предложенные подходы расширяют возможности выявления опасных мутагенных примесей, которые могут присутствовать в технических продуктах в небольших количествах, но, попадая в окружающую среду, могут приводить к повышению спонтанного уровня мутирования у живых организмов.



Перспективы таргетного антимуутагенеза

А.К. Жанатаев¹

¹ ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва

zhanataev_ak@academpharm.ru

Применение антимуутагенов рассматривается как наиболее действенный способ профилактики последствий генотоксических воздействий эндогенных и экзогенных факторов на человека. Антимуутагенная активность выявлена у большого количества природных и синтетических соединений, имеющих разнообразные механизмы протекторного действия. Накоплен опыт реального применения антимуутагенов для защиты генома человека.

Разработка антимуутагенов ведется с целью защиты генома на уровне всего организма, что объясняется политаргетностью действия большинства генотоксикантов. В это же время актуализируется новое направление в антимуутагенезе — разработка таргетных антимуутагенов, средств направленной защиты определенных органов/тканей организма.

На сегодня можно выделить по меньшей две востребованные области практического применения таргетных антимуутагенов: 1) защита нецелевых органов/тканей при проведении лекарственной терапии, сопряженной неизбежно с гено- и цитотоксической нагрузкой. Например, органы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) наиболее подвержены побочному генотоксическому действию цитостатиков или антибиотиков. Разработка таких антимуутагенов возможна на основе соединений, которые не всасываются в ЖКТ и таким образом обеспечивают на всем его протяжении локализованное протекторное действие, не оказывая влияния на основной терапевтический эффект. 2) защита органов/тканей, подвергающихся наибольшей нагрузке экогенотоксикантами. Например, легкие являются главной мишенью генотоксического действия у лиц, занятых на вредных производствах, проживающих в районах с повышенным содержанием в воздухе промышленных загрязнителей и т. д. В этом случае обосновано применение в первую очередь антимуутагенов, демонстрирующих, вследствие фармакокинетических или иных характеристик, наиболее выраженные эффекты в этом органе-мишени.

Разработка таргетных антимуутагенов возможна как путем подбора антимуутагенов с заданными фармакокинетическими характеристиками среди ранее выявленных и изученных, так и их направленным синтезом. Методически такие исследования на сегодня обеспечены двумя проверенными «инструментами» — методом ДНК-комет и полиорганным микроядерным тестом.



100 лет наблюдений за составом популяций: последствия глобального потепления и загрязнения атмосферы (исследования на *Adalia bipunctata*)

И.А. Захаров-Гезехус¹

¹ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН

iaz34@mail.ru

На протяжении последних 100 лет экологическая обстановка на значительной части территории Земли существенно изменилась в результате последствий человеческой деятельности. Естественно, что изменение условий обитания не может не сказываться на популяциях как животных, так и растений. Однако зафиксировать эти изменения затруднительно, поскольку систематических и многолетних, в течение нескольких десятилетий, исследований генетической структуры популяций того или иного вида проводилось чрезвычайно мало.

Одним из исключений являются многолетние исследования популяционной структуры двуточечной божьей коровки (*Adalia bipunctata*), начатые в 1925 г. советским генетиком Я. Я. Лусисом, который проводил эти исследования в течение 50 лет, и которые были продолжены автором настоящего сообщения, начавшим изучать популяции адалии в 1975 году.

В совокупности материалы, собранные Я. Я. Лусисом и И. А. Захаровым, о составе популяций ряда городов Европейской части России, а также Армении, Узбекистана и Норвегии, демонстрируют зависимость состава популяций от климатических изменений. Наблюдения показали влияние глобального потепления на состав ряда популяций России, а также Норвегии. Выявлена также многолетняя перестройка популяций в нескольких быстро растущих городах (Ташкент, Ереван) под вероятным влиянием антропогенного изменения состава атмосферы.

Полиморфный вид *Adalia bipunctata* является особенно удобным объектом для исследований в области экологической генетики, но нет оснований сомневаться, что под влиянием изменений климата и состава атмосферы происходят изменения генофонда популяций и других видов.



Цитогенетические эффекты микропластика у растительных организмов

В.Н. Калаев¹, Е.А. Калаева¹, Д.А. Копина¹, В.А. Петриева¹, А.А. Петрова¹

¹ Воронежский государственный университет

dr_huixs@mail.ru

С усилением загрязнения окружающей среды микропластиком возрастает интерес к возможным воздействиям этого поллютанта на живые организмы. Основной упор в исследованиях делается на установление эффектов у животных, значительно меньше выполняется работ по выявлению последствий загрязнения микропластиком у растений, в том числе по установлению цитогенетических реакций растительных организмов на воздействие данного агента. В связи с вышеизложенным целью работы явилась оценка влияния различных типов микропластика на цитогенетические показатели (митотическую активность, уровень и спектр патологий митоза, ядрышковые характеристики) апикальной меристемы корней *Zebrina pendula* Schnizl. Цитогенетические эффекты изучали в клетках корней зебрины поникающей, выращенной в воде, содержащей 0,2 и 2% (по массе) микропластика. Наличие в среде микропластика из полиэтилена низкой плотности (высокого давления) вызывало снижение митотического индекса как при низких, так и высоких концентрациях. Также он индуцировал угнетение репаративных процессов, что выражалось в увеличении числа отставаний хромосом на стадии анафазы. Микропластик из полиэтилена высокой плотности (низкого давления) вызывал угнетение репаративных процессов при низких концентрациях (наблюдалось увеличение числа отставаний хромосом) и их активацию — при высоких концентрациях (было обнаружено увеличение числа мостов в анафазе). Микропластик из полипропилена в низких концентрациях вызывал снижение времени прохождения клетками стадии профазы, увеличение времени прохождения стадии метафазы, возрастание числа клеток с микроядрами. Микропластик из полистирола угнетал репаративные процессы в клетках апикальной меристемы корня, что выражалось в увеличении числа отставаний хромосом в метакинезе. Микропластики из полиэтилентерефталата, полиэтилена низкой плотности, полистирола оказывали влияние на ядрышковые характеристики клеток апикальной меристемы: активировали латентные ядрышкообразующие районы (увеличивалось число ядрышек), изменяли их функциональную активность, типа ядрышек и площадь их поверхности. Наиболее заметные модификации ядрышковых характеристик отмечались при воздействии микропластика из полистирола. Таким образом, выращивание *Zebrina pendula* Schnizl. на водных средах, содержащих микропластик, может вызывать изменение их цитогенетических характеристик.



Генетические и эпигенетические маркеры опосредованной средой токсичности малых доз диоксинов для млекопитающих (на примере *Clethrionomys glareolus*)

А.Р. Лавренов^{1 2}, Т.А. Мышлявкина^{1 2}, В.С. Румак^{1 2}, Н.В. Умнова², А.И. Ким^{1 3}

¹ Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова

² Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН

³ Биологический факультет, Университет МГУ–ППИ в Шэньчжэне

overtaki@mail.ru

Диоксины представляют собой стойкие органические загрязнители, негативно влияющие на здоровье вступивших с ними в контакт организмов. Мощным источником диоксинов являются свалки твердых отходов производства и потребления. Установленные допустимые уровни содержания диоксинов в средах не учитывают сверхкумулятивные свойства данных веществ и активного влияния факторов окружающей среды на их токсичность. Молекулярно-генетические методы способны обнаружить эффекты начального токсического действия, возникающие на генетическом и эпигенетическом уровнях.

Проявления токсичности диоксинов, как и других ксенобиотиков, важно рассматривать относительно изменений метаболизма. За основу мы взяли гены, задействованные в рецепции, первом этапе биотрансформации и ответе на окислительный стресс. Также мы провели анализ экспрессии генов ДНК-метилтрансфераз и ретротранспозонов, отражающих эпигенетические изменения, происходящие в экспонированном организме.

Мы исследовали образцы печени, собранные среди трех популяций рыжих полевок, обитающих на загрязненных диоксинами территориях за пределами санитарных зон свалок: «Саларьево», «Лесная» и «Кучино». В качестве условного контроля использованы неэкспонированные рыжие полевки из вивария ЦКП «Живая коллекция диких видов млекопитающих» научно-экспериментальной базы «Черноголовка» ИПЭЭ РАН. Сбор образцов проводили весной и осенью, т.к. ранее было установлено различное содержание диоксинов в тканях полевок, отловленных в разные сезоны года.

Изменения в экспрессии профильных генов отмечены на всех уровнях ответа на хроническое воздействие малых доз диоксинов. Мы также обнаружили сезонные отличия по экспрессии генов в пробах внутри каждой популяции. Полагаем, что выбранные нами маркеры могут быть использованы для оценки начальных эффектов воздействия малых доз диоксинов на организм и прогнозирования последствий для здоровья населения загрязненных территорий.

Работа поддержана бюджетным финансированием и общественным экологическим Фондом «Гражданин».



Использование цельноклеточных lux-биосенсоров в экотоксикологических исследованиях

У.С. Новоятлова¹, И.В. Манухов¹, С.В. Баженов¹

¹ МФТИ, г. Долгопрудный
novoyatlova.us@phystech.edu

Цельноклеточными lux-биосенсорами называются генномодифицированные бактериальные клетки с генами, кодирующими систему ферментов, обеспечивающих люминесценцию. Lux-биосенсоры делятся на конститутивные и индуцируемые; в первом случае, клетки люминесцируют постоянно, и токсичность оценивается по падению светимости. Во втором случае, экспрессия ферментов, обеспечивающих люминесценцию, контролируется индуцируемыми промоторами, и люминесценция может увеличиваться под воздействием определенного фактора или в присутствии конкретных соединений.

Нами был разработан набор индуцируемых цельноклеточных lux-биосенсоров на основе бактерий *E. coli* и *B. subtilis* для комплексных исследований на токсичность. Были сконструированы плазмиды с генами *luxCDABE* из *P. luminescens*, под контролем различных стресс-индуцируемых промоторов. Это промоторы, индуцирующиеся в ответ на окислительный стресс и повреждение ДНК (отдельно на алкилирование ДНК и на остановку репликационной вилки). Использование набора позволяет оценить токсичность аналитов и различить типы токсического воздействия на бактериальную клетку, а также оценить разницу воздействия на грамотрицательные и грамположительные бактериальные клетки. Область применения технологии широка: фармацевтика, пищевая промышленность, экотоксикологические исследования и т. д. [1].

С помощью набора lux-биосенсоров были проведены исследования токсичности новосинтезированных соединений [2, 3]. Было также показано, что данный набор может быть использован для экотоксикологических исследований, в том числе для анализа почв [4] на содержание токсикантов.

С помощью биосенсоров, детектирующих алкилирование ДНК, на основе *E. coli* и *B. subtilis* было проведено исследование по возможности накопления алкилирующих соединений водными организмами. Для этого использовались бокоплавывы рода *Gammarus*, временно инкубировавшиеся в среде с добавлением метилметансульфоната (MMS) в различных концентрациях. С помощью биосенсоров *E. coli* pAlkA-lux и *B. subtilis* pNK-alkA было исследовано повышение люминесценции в присутствии тканей гаммаруса и среды, в которой они содержались. Начиная с определенной концентрации MMS в среде, отклик биосенсора на ткани бокоплавыва был сильнее по сравнению с водой, в которой эти бокоплавывы инкубировались. Это свидетельствует о способности бокоплавывов накапливать эти соединения у себя в организме.

[1] Bazhenov S. V. et al., Biosensors and Bioelectronics: X, vol. 13, 2023, 100323.

[2] Novoyatlova U. S. et al., Biosensors (Basel), vol. 13, 2023, 57.

[3] Burmistrov V. et al., Int J Mol Sci, vol. 23, 2022, 10710.

[4] Kessenikh A. G. et al., Int J Mol Sci, vol. 22, 2021, 9571.

Работа выполнена при поддержке РФФ, грант 22-74-10047.



Генетические и физиологические основы возникновения вредоносных цветений потенциально токсичных динофлагеллят в прибрежных зонах морей

С.О. Скарлато¹

¹ *Институт цитологии РАН*

sergei.skarlato@mail.ru

В последнее время вредоносные цветения планктонных водорослей интенсифицировались во многих морских прибрежных акваториях мира вследствие изменения климата и неуклонно возрастающей антропогенной нагрузки на водоемы. Эти явления приводят к существенному снижению качества природных вод и наносят катастрофический ущерб флоре и фауне водоемов, рыболовству, аквакультуре, здоровью и хозяйственной деятельности человека. Жгутиконосцы-динофлагелляты — одна из основных групп морского фитопланктона, многие представители которой способны формировать опасные цветения («красные приливы») в прибрежных зонах морей. Ряд видов динофлагеллят могут синтезировать разнообразные токсины, среди которых сакситоксины, неосакситоксины и бреветоксины наиболее опасны для человека и морских экосистем умеренных широт. Причины возникновения этих цветений зависят не только от экологических и физико-химических параметров окружающей среды. Существенный вклад в формирование «красных приливов» вносят уникальные генетические и физиологические особенности организации клеток самих динофлагеллят. В настоящем докладе на примере модельных организмов будет показано, что специфическая организация клеточного ядра и генома этих жгутиконосцев, гетерогенность их популяций, пластичность стратегий пищевого поведения доминирующих видов (способность к миксотрофии), удивительное разнообразие ионных каналов и, как следствие всего этого, высокая адаптабельность динофлагеллят к динамичным абиотическим свойствам среды могут играть ключевую роль в формировании мощных вредоносных цветений. Новые знания в вышеназванных областях исследований, полученные в последние годы, позволяют перейти на новый, более высокий уровень понимания сложных взаимодействий в водных экосистемах и обеспечить существенный прогресс в области концептуального и прогностического математического моделирования «красных приливов» динофлагеллят.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 22-14-00056).



Генетическое разнообразие потенциальных возбудителей зоонозных инфекций из рукокрылых и насекомоядных (ежей): метавирусный анализ биологических образцов от животных, пойманных на территории европейской части России

А.С. Сперанская¹, Е.В. Корнеев¹, А.В. Лукина-Гронская¹, И.К. Чудинов^{1 2}, С.Д. Машкова^{1 3}
И.В. Сонец^{1 4}, А.Е. Самойлов¹, Т.А. Семашко¹, Е.М. Литвинова³, В.Г. Дедков⁵

¹ НИИ Системной биологии и медицины Роспотребнадзора, Москва

² МФТИ (НИУ), Москва

³ МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

⁴ ИБГ РАН, Москва

⁵ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера Роспотребнадзора, Санкт-Петербург

hanna.s.939@gmail.com

Технологии массового параллельного секвенирования (МПС) облегчили задачу получения первичной информации, необходимой для идентификации и генетической характеристики новых вирусов, в том числе потенциальных возбудителей зоонозных инфекций. С другой стороны, эти возможности уже не представляются достаточно объемлющими для формирования обоснованных заключений о представленности и потенциальной опасности патогенов для человека и сельскохозяйственных животных. Исключительная чувствительность методов МПС не только обеспечивает качественную детекцию низкопредставленных объектов исследования в сложных биологических смесях, но и осложняет анализ результатов, ввиду неизбежного вхождения контаминационных примесей. Например, невозможно дать обоснованное заключение о наличии вируса в образцах, представляющих собой ротоглоточные смывы или фекалии животных, на основании только лишь подсчета количества прочтений, картирующихся на референсный геном. По сути, после накопления данных секвенирования и биоинформатического анализа, формируется первичное предположение о возможном наличии в образце объекта интереса. Если идет речь об идентификации неизвестных новых вирусов, возникает необходимость в расширенном детальном описании структуры генома и проведении сравнительного структурного анализа.

В настоящем исследовании к обсуждению предлагаются результаты анализа виромов от рукокрылых пяти видов, широко распространенных на территории Европейской части РФ ($n = 43$), и насекомоядных (ежи вида *E. roumanicus*, $n = 21$). Нами были получены более сотни полных или почти полных геномов вирусов различных семейств. Наибольший интерес представляют собой представители Coronaviridae (несколько различных представителей двух родов Альфа- и Бетакоронавирусов найдены в рукокрылых и ежах, для нескольких животного показана коинфекция одновременно несколькими коронавирусами). Также к объектам интереса относятся представители семейств Adenoviridae (определен полный геном нового вида рода Mastadenovirus, в рукокрылых вида *N. noctula*), Nodaviridae (в рукокрылых), Arenoviridae (в ежах).

Полученная новая информация значительно расширяет представления о генетическом разнообразии потенциально зоонозных вирусов из животных, обитающих на территории России.

Работа выполнена в рамках ГЗ «Разработка алгоритмов для выявления новых, уникальных последовательностей ДНК или РНК в метагеномах и их фенотипическая характеристика *in vitro*» (No. 12203090069-4).



Современное развитие физиологической гипотезы мутационного процесса М. Е. Лобашева и ее значение для генетической токсикологии

Е.И. Степченкова^{1 2}, А.С. Жук^{1 2}, С.Г. Инге-Вечтомов^{1 2}

¹ Санкт-Петербургский государственный университет

² Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН

stepchenkova@gmail.com

Разработка и совершенствование тест-систем, применяемых в генетической токсикологии, — это важный практический результат фундаментальных исследований молекулярных механизмов мутагенеза. Глубокое понимание механизмов и причин дестабилизации генома необходимо для выбора оптимальной стратегии тестирования и адекватной интерпретации результатов тестов. Основы для понимания причин и механизмов наследственных изменений генетического материала были заложены в физиологической гипотезе (ныне — теории) мутационного процесса, сформулированной М. Е. Лобашёвым в 1947 г., задолго до открытия структуры ДНК. В своих работах М. Е. Лобашёв ввел понятие предмутационных повреждений генетического материала и впервые предположил, что мутагенез представляет собой физиологический процесс, в основе которого лежит нетождественная репарация поврежденного генетического материала. В более поздних исследованиях других авторов основные положения физиологической гипотезы мутационного процесса были подтверждены экспериментально. Согласно современным представлениям, источником мутаций служит неоднозначность матричного синтеза ДНК, который происходит в ходе репарации, репликации и рекомбинации. Повреждения в матричной цепи ДНК существенно повышают неоднозначность синтеза ДНК и, как следствие, частоту мутаций, поэтому актуально создавать тест-системы, позволяющие выявлять не только мутации, но и первичные повреждения. Современные исследования позволили установить физическую природу первичных повреждений и мутаций, разработать методы для их идентификации и оценить влияние первичных повреждений и мутаций на формирование фенотипа. Огромные успехи были достигнуты при изучении физиологических факторов мутагенеза: были описаны отдельные этапы и идентифицированы белки репликации и репарации, вносящие наибольший вклад в поддержание стабильности генома. Все эти достижения успешно используются в современной генетической токсикологии, а также определяют тенденции ее дальнейшего развития. Наиболее насущными задачами генетической токсикологии являются: упрощение и удешевление процедуры тестирования; разработка методов для оценки генетической безопасности лекарств, основанных на применении технологий редактирования генома и других новейших молекулярно-генетических технологиях. Возможный прорыв в этих направлениях может быть связан с дальнейшим развитием методов полногеномного секвенирования.

Работа поддержана грантом РФФИ 20-15-00081.

Симпозиумы 3, 18: **Биоинформатика и системная биология**
Symposia 3, 18: **Bioinformatics and Systems Biology**



Системная биология для решения задач промышленной биотехнологии

И.Р. Акбердин¹

¹ НТУ Сириус, Сириус

akberdinir@gmail.com

Оптимизация штаммов *in silico* и компьютерный дизайн генетических конструкций опирается на бурно развивающуюся область современной биологии — синтетическую биологию, в которой развитие опережающих технологий наиболее вероятно и востребовано. Ее направлением является геномная инженерия — создание новых про- и эукариотических организмов с заданными свойствами на основе реорганизации и/или модификации их геномов. Развитие этого направления требует глубоких знаний о структурно-функциональной организации геномов, транскриптомов, протеомов и метаболомов организма, обеспечивающих понимание механизмов формирования целевых признаков, а также методов и подходов, позволяющих проводить реконструкцию и анализ молекулярно-генетических и метаболических систем, контролирующих их. Системный подход, включающий интеграцию омиксных данных, детальный анализ генных взаимодействий с последующей реконструкцией регуляторной сети и построением соответствующей математической модели, является многообещающим подходом к созданию рациональной стратегии для улучшения биотехнологических или целевых свойств исследуемых культур клеток и даже целых организмов. Развитие системно-биологических подходов привело к накоплению большого массива гетерогенных данных, анализ которых невозможен без разработки компьютерных платформ. Реализация в рамках таких платформ методов потокового и динамического моделирования молекулярно-генетических и метаболических систем микроорганизмов, дрожжей, клеточных систем растений является одной из возможностей использования разноуровневых гетерогенных данных для решения проблем биотехнологии.

В докладе будут представлены современные подходы системной биологии, которые позволяют *in silico* предсказать генетические модификации (нокаут гена, модификация промотора), необходимые для увеличения скорости роста культуры клеток, выхода целевого продукта при росте культуры клеток в оптимальных условиях и в зависимости от различных субстратов, а также — примеры их применения для создания, в конечном счете, штаммов-суперпродуцентов.

Работа выполняется при поддержке гранта РНФ (проект № 23-24-00606).



Моделирование продуктивности нута с помощью синтетических изображений и сверточной нейронной сети

М.П. Банкин¹, Я.А. Тырыкин¹, М.Г. Самсонова¹, К.Н. Козлов¹

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

mikle.p.bankin@gmail.com

Синтетические изображения (СИ) — это новая концепция представления геномных данных. Преимущества СИ заключаются в их удобной и простой визуализации, компактности и возможности применять огромное количество методов, разработанных для анализа и классификации изображений, таких, как сверточные нейронные сети (CNN).

Геномные и погодные данные, доступные для набора данных нута, закодированы в синтетические изображения, а модель прогнозирования фенотипа строилась в виде сверточной нейронной сети. Модель использует данные о погоде только за ограниченный период времени (5 дней до и 20 дней после посадки) и способна прогнозировать фенотипы с высокой точностью.

Сверточная нейронная сеть принимает на вход синтетические изображения. Каждое сверточное ядро скользит по соответствующему каналу изображения, а результаты обработки объединяются в одну карту признаков. Размер ядра фильтра каждого сверточного слоя был настроен с использованием небольшого подмножества доступных экспериментальных данных, а коэффициенты свертки являются параметрами обучения модели. За каждым сверточным слоем следует слой субдискретизации, который уменьшает размер карт для обобщения признаков. Такая фильтрация помогает, среди прочего, избежать переобучения. Формирование новой карты признаков основано на операции maxpooling, которая выполняется путем выбора максимального значения из подвыборки заданного размера.

Метод отбора наиболее важных факторов-предикторов разработан на основе карт важности признаков, определяемых сверточной нейронной сети, и статистического критерия Даннета, являющегося процедурой множественного сравнения каждого из ряда факторов. Такой подход учитывает свойства сверточных нейронных сетей.

В качестве показателей продуктивности для моделирования взяты два основных фенотипических признака: масса тысячи семян (TSW) и количество семян с одного растения (SYDS). Для каждого признака признака 200 ОНП, из них для TSW 32% совпали с известными ОНП в EVA (Европейский архив вариаций, т. 3–4); 91 ОНП ассоциирован с 64 генами; 55% ассоциированных с генами ОНП в кодирующей области; для SYDS 29% совпали с известными ОНП в Eve; 61 ОНП ассоциирован с 50 генами; 60% ассоциированных с генами ОНП в кодирующей области.

Наш подход может помочь селекционным программам использовать генотипическое и фенотипическое разнообразие для более эффективного производства сортов с желаемыми характеристиками.

[1] *Bavykina, M. et al. Modeling of Flowering Time in Vigna radiata with Artificial Image Objects, Convolutional Neural Network and Random Forest. Plants 11, 3327 (2022).*

Поддержана Российским научным фондом (грант № 22-46-02004).



Computer-based reconstruction and analysis of gene networks using the cognitive system ANDSystem

A.S. Venzel^{1,2}, P.S. Demenkov^{1,2}, T.V. Ivanisenko^{1,2}, E.A. Antropova¹, A.L. A Makarova¹,
A.V. Adamovskaya^{1,2}, N.A. Kolchanov¹, V.A. Ivanisenko^{1,2}

¹ *Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia*

² *Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

venzel@bionet.nsc.ru

Cognitive computer systems are gaining increasing interest in the field of biomedicine for the reconstruction and analysis of gene networks. These systems offer a full cycle of knowledge engineering, including entity recognition, relationship establishment, knowledge integration, and presentation in the form of semantic networks or a knowledge graph. Additionally, they provide a range of tools for data analysis and interpretation, such as gene prioritization and identification of overrepresented biological processes or diseases.

We have developed a cognitive software and information system, ANDSystem [1], which considers 12 types of objects, including organisms, cells/tissues, diseases, genes, metabolites, drugs, etc. The system extracts knowledge about physical interactions, catalytic reactions, regulatory relationships, and more, from scientific texts. The ANDSystem knowledge base, created based on large-scale automatic analysis of over 30 million PubMed abstracts and full-text articles from PMC, as well as hundreds of factographic databases in the field of biology and biomedicine, is a unique resource containing formalized knowledge about more than 50 million interactions between molecular-genetic objects of different organisms. The developed system surpasses similar known systems in the world in terms of the number of considered types of relationships and types of objects.

ANDSystem has been used to solve a wide range of problems in the reconstruction of the molecular mechanisms of diseases, the interpretation of omics data, and other problems in the field of biomedicine. In particular, we have used ANDSystem to study the molecular genetic mechanisms of pathogen-host interaction. Reconstruction of signaling pathways for the regulation of cellular biological processes by viral proteins can help in the search for new pharmacological targets. Using ANDSystem, we reconstructed associative gene networks describing the potential regulation of the apoptosis process by HCV viral proteins. Expanding the given gene network with consideration of information about aberrantly methylated genes in hepatocellular carcinoma enabled the prioritization of new promising pharmacological targets for liver cancer therapy. Furthermore, we have reconstructed potential molecular mechanisms of dysfunction of signaling pathways in hepatocellular carcinoma.

In conclusion, ANDSystem is a powerful cognitive system for the reconstruction and analysis of gene networks, with a unique knowledge base that surpasses similar known systems in the world. The system has been successfully applied to solve a wide range of problems in the field of biomedicine, and we continue to explore its potential in the study of molecular genetic mechanisms of diseases.

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

The bioinformatics analysis was supported by the budget project, FWNR-2022–0020.



Транскриптомика единичных клеток как метод изучения функционального состояния иммунной системы больных раком молочной железы в ходе химиотерапии

Т.С. Геращенко¹, А.А. Фролова¹, М.Р. Патышева¹, А.А. Федоров¹,
А.П. Филатова², П.С. Ямщиков¹, Н.В. Чердынцева¹

¹ НИИ онкологии Томского НИМЦ, Россия, Томск

² Томский государственный университет, Россия, Томск

t_gerashenko@list.ru

Функциональное состояние эффекторов врожденного и адаптивного иммунитета в значительной степени определяет противоопухолевый иммунный ответ и влияет на результативность лечения больных трижды негативным раком молочной железы (ТНРМЖ). Неoadъювантная химиотерапия (НАХТ), как компонент системного противоопухолевого воздействия, наряду с цитотоксическим влиянием на опухолевые клетки, затрагивает также и иммунные, изменяя их активность. Целью настоящего исследования явилось изучение транскрипционных изменений популяционного состава иммунных клеток крови пациентки с ТНРМЖ в ходе НАХТ с помощью РНК секвенирования единичных клеток. Анализ транскриптома единичных клеток периферической крови, полученных на 3- и 21-е сутки после проведения 1 курса НАХТ, проводился методом секвенирования по технологиям BD Rhapsody Express (Becton Dickinson, США) и Chromium Fixed RNA (10x Genomics, США) на платформах NextSeq 2000 (Illumina, США) и Genolab M (GeneMind Biosciences, Китай).

Полученные данные были обработаны и проанализированы с помощью программ Seurat (v5.0.0) и R (v.4.1.2). Нормализация матриц проводилась с использованием метода SCTransform.

Данные, полученные с помощью разных технологий, были интегрированы алгоритмом Harmony, кластеризованы методом FindNeighbors и функции FindClusters. В результате исследования было идентифицировано 21 различная популяция иммунных клеток, среди которых: В-(CD79⁺), NK-(KIR2DL⁺), DC-(CD135⁺), Т-(CD4⁺), Т-(CD8⁺), Т-регуляторные (CD25⁺, FOXP3⁺) клетки и моноциты (CD14⁺CD16⁻ и CD14⁺CD16⁺). У пациентки с прогрессией заболевания наблюдалось снижение количества эффекторов адаптивного иммунного ответа (CD4⁺, CD8⁺ Т лимфоцитов), на фоне увеличения количества клеток врожденного иммунного ответа (NK-клетки, моноциты). В CD4⁺, CD8⁺ Т лимфоцитах наблюдалась экспрессия генов *STAT1*, *STAT5A*, *JUN*, *CD4*, *DDX3X*, *CD44*, ответственных за процессы повышенной активации и дифференцировки. Таким образом, в ходе исследования показано, что отсутствие ответа на химиотерапию сопряжено с нарушением функциональной активности клеток адаптивного иммунитета.

Исследование поддержано грантом РФФ № 22-75-10128.



Метаанализ профилей дифференциальной экспрессии генов: к вопросу о выборе данных

А.В. Тяпкин¹, В.В. Лавреха^{1,2}, Н.А. Омелянчук¹, Е.В. Землянская^{1,2}

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск
ezemlyanskaya@bionet.nsc.ru

Стремительный рост количества полногеномных экспериментов по изучению изменения экспрессии генов в различных условиях обусловил широкое распространение интегрированного анализа (метаанализа) транскриптомных данных. Интеграция данных может повысить точность статистических оценок, а также позволяет тестировать гипотезы, которые невозможно было проверить в отдельных исследованиях. Для повышения информативности такой интеграции необходимо оптимизировать подбор экспериментов. Мы предлагаем набор количественных показателей для всестороннего сравнительного описания транскриптомных данных, которые легко могут быть визуализированы и интерпретированы. К ним относятся количество дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ), доля ДЭГ, специфических для каждого набора данных, мера попарного сходства экспериментов по составу ДЭГ, статистическая оценка однородности профилей ДЭГ. Для автоматического вычисления и визуализации этих показателей мы разработали программу InterTransViewer. На примере применения программы для сравнительного описания транскрипционных ответов на обработку фитогормонами у модельного растения *Arabidopsis thaliana* L. мы продемонстрировали, что комплексное рассмотрение предлагаемых характеристик позволяет позиционировать эксперименты в контексте друг друга, оценивать тенденцию к их интеграции/сегрегации, генерировать гипотезы о влиянии нецелевых факторов на исследуемый транскрипционный ответ, выделять потенциально однородные группы экспериментов, статистически оценивать однородность этих групп профилей. Это помогает принять решение о целесообразности использования данных для метаанализа. В целом InterTransViewer позволяет эффективно формировать выборки экспериментов в зависимости от задачи и методов метаанализа.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-14-00140.



AtSNP_TATAdb: кандидатные молекулярные маркеры полезных свойств растений, связанные с однонуклеотидным полиморфизмом проксимальных промоторов *Arabidopsis thaliana* L.

К. Золотарёва¹, А. Богомолов¹, С. Филонов¹, И. Чадаева¹, Д. Рассказов¹, Е. Шарыпова¹,
Н. Подколodный¹, П. Пономаренко¹, Л. Савинкова¹, Н. Твердохлеб, Б. Хандаев¹, Е. Кондратюк¹,
О. Подколodная¹, Е. Землянская¹, Н.А. Колчанов¹, М. Пономаренко¹

¹ Институт цитологии и генетики, Новосибирск

ka125699ri@yandex.ru

Магистральное направление постгеномной маркер-направленной селекции культурных видов растений включает биофортификацию, которая сочетает высокопроизводительное фенотипирование с селекцией на основе генома. Поэтому в этой работе мы использовали ранее созданные нами Web-сервис Plant_SNP_TATA_Z-tester для проведения единообразного анализа *in silico* изменений транскрипции 54013 белок-кодирующих транскриптов 32833 генов *Arabidopsis thaliana* L., вызванных 871707 вариантами однонуклеотидного полиморфизма (SNP) их проксимальных промоторов. Анализ выявил 54993 SNP, которые способны достоверно снижать или повышать экспрессию генов за счет изменения сродства TATA-связывающего белка (ТВР) к промоторам. Присутствие этих SNP в высококонсервативных проксимальных промоторах отражает внутривидовое разнообразие, поддерживаемое стабилизирующим естественным отбором. Чтобы подтвердить это, мы вручную аннотировали статьи о некоторых генах арабидопсиса, несущих выявленные нами SNP-маркеры, или об их ортологах у других видов растений и продемонстрировали влияние изменений в экспрессии этих генов на жизненно важные признаки растений. Мы документировали оценки *in silico* для сродства ТВР-промотор в базу знаний AtSNP_TATAdb и показали их статистически достоверную корреляцию с независимыми экспериментальными данными *in vivo*. Эти корреляции оказались устойчивы к варьированию статистических критериев, геномному окружению сайтов ТВР-связывания в геноме, видов растений и условий их возделывания.

Работа выполнена за счет финансирования бюджетного проекта FWNR-2022-0020 и Курчатовского геномного центра, номер соглашения 075-15-2019-1662. Вычисления проводились с использованием ресурсов ЦКП «Биоинформатика».



Пластичность резистома природных биотопов человека

Е. Н. Ильина¹

¹ НИИ Системной биологии и медицины

ilinaen@gmail.com

Аннотация. Технологии высокопроизводительного метагеномного секвенирования позволяют обнаружить всю совокупность генов резистентности в исследуемом биотопе (резистом), открывая возможность отслеживать пути возникновения и распространения лекарственной устойчивости как комменсальных, так и патогенных бактерий из различных мест обитания. Ранее источником генов антибиотикорезистентности рассматривались преимущественно образцы окружающей среды, сегодня наиболее вероятной нишей для обмена генетическим материалом между комменсалами и патогенами представляются микробиоценозы человека, приводя, в том числе на фоне нерациональной антибиотикотерапии, к формированию мультирезистентных штаммов бактерий. На фоне пандемии новой коронавирусной инфекции в период бесконтрольного использования антибиотиков и дезинфицирующих средств ожидается рост популяции таких штаммов. В проводимых нами исследованиях, частично поддержанных государственным заданием № 122030900064–9, мы отследили пластичности популяционного резистома человека на фоне лекарственной терапии и во временной динамике.

Материалы и методы. Объектами исследования служили орофарингеальные мазки и образцы фекалий, полученные от пациентов с COVID-19 и здоровых добровольцев, в том числе переболевших COVID-19. Образцы подвергались экстракции ДНК и тестированию на присутствие генов антибиотикорезистентности посредством метагеномного анализа с гибридационным обогащением либо ПЦР в реальном времени.

Результаты. Продемонстрировано существование резистотипов, как отличной от энтеротипов характеристики микробного сообщества кишечника. Показана смена резистотипов на фоне лекарственной терапии и трансфер генов антибиотикоустойчивости между респираторным и кишечным биотопом. Установлены популяционные изменения распространения генов антибиотикорезистентности, произошедшие под влиянием пандемии COVID-19.

Заключение. Развитие представлений о резистоме природных микробиоценозов человека позволяет продвинуться в понимании целого ряда проблем — от предсказания клинической эффективности антимикробной терапии до расшифровки молекулярных механизмов формирования устойчивости бактериальной флоры к биоцидам и путям преодоления этого процесса.



Исследование вариаций и структуры генома сортов картофеля *Solanum tuberosum*, выращиваемых в России

Д. И. Каретников¹, Г. В. Васильев¹, С. В. Тошчаков², Н. А. Шмаков¹, М. А. Генаев¹, М. А. Нестеров¹,
С. М. Ибрагимова¹, Д. А. Рыбаков³, Т. А. Гавриленко³, Е. А. Салина¹, М. В. Патрушев², А. В. Кочетов¹,
Д. А. Афонников¹

¹ Курчатowskiй геномный центр ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

² НИЦ Курчатowskiй институт, Москва, Россия

³ ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия
karetnikovmit@bionet.nsc.ru

Solanum tuberosum L. — одна из важнейших сельскохозяйственных культур, выращиваемых практически во всем мире. Геномные данные картофеля открывают путь к изучению вариаций, связанных с диверсификацией.

В рамках данного исследования были реконструированы геномные последовательности 30 тетраплоидных сортов картофеля *S. tuberosum*, произрастающих в России. Полученные геномы были аннотированы, определены ортологичные группы и охарактеризованы консервативные и варибельные части пангеном, а также репертуар генов NBS-LRR. Вариации количества копий генов (CNV) были идентифицированы в геномах сортов картофеля, выращиваемых в России, а также в геномах южноамериканских сортов, после чего проведен их сравнительный анализ и идентифицированы гены, ассоциированные с CNV [1].

Одной из особенностей хлоропластной ДНК картофеля является разделение ее на несколько типов. Для выявления типа пластомеров нами были реконструированы полные последовательности хлоропластной ДНК каждого отечественного сорта. На основе полученных сборок идентифицированы однонуклеотидные полиморфизмы, инсерции и делеции, микросателлиты, а также определены типы ДНК хлоропластов картофеля и реконструирована филогения на основе множественного выравнивания целых пластомеров [2].

Вычисления проводились с использованием ресурсов ЦКП «Биоинформатика».

[1] Karetnikov, D. I.; Vasiliev, G. V.; Toshchakov, S. V.; Shmakov, N. A.; Genaev, M. A.; Nesterov, M. A.; Ibragimova, S. M.; Rybakov, D. A.; Gavrilenko, T. A.; Salina, E. A.; et al. Analysis of Genome Structure and Its Variations in Potato Cultivars Grown in Russia. *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24, 5713.

[2] Karetnikov, D. I.; Salina, E. A.; Kochetov, A. V.; Afonnikov, D. A. Assembly and Analysis of Plastomes for 15 Potato Cultivars Grown in Russia. *Agronomy* 2023, 13, 1454.

Работа выполнена за счет финансирования Курчатowskiй геномного центра ФИЦ ИЦиГ СО РАН, соглашение с Министерством образования и науки РФ № 075-15-2019–1662.



Биоинформатическая квантификация экологических функциональных групп симбиотической микробиоты кишечника человека на основе данных высокопроизводительного секвенирования

А.И. Клименко¹, А.И. Кропачев¹, С.А. Лашин¹

¹ Федеральный исследовательский центр институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

klimenko@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: признак-ориентированная экология, экологические функциональные группы, метагеном, метатранскриптом, микробиом кишечника человека.

Микробиота кишечника человека играет важнейшую роль в работе пищеварения, метаболизма короткоцепочечных жирных кислот, витаминов и других соединений, работе иммунитета и поддержании здоровья организма. При этом большинство программных средств функционального анализа метагеномных и метатранскриптомных данных, полученных из микробиоты кишечника, оценивают широкий спектр потенциально активных функций и не нацелены на конкретные процессы, являющиеся ключевыми для данной экосистемы.

Мы использовали подход экологии, основанной на признаках, в котором экосистемы описываются в терминах взаимодействия не таксономических единиц, а функциональных групп, выделенных на основе экологически значимых признаков. Данный подход актуален для микробных сообществ, поскольку для них степень, в которой функциональные признаки являются филогенетически консервативными, может быть различной.

Мы разработали и реализовали метод биоинформатической квантификации экологических функциональных групп симбиотической микробиоты кишечника человека, который позволяет использовать доступные метагеномные или метатранскриптомные данные для количественной оценки представленности или активности соответствующих функциональных групп. Разработанное средство было верифицировано с использованием доступных данных, полученных при изучении влияния рациона на стабильность муцинового слоя. Верификация показала соответствие закономерностей изменения представленности функциональных групп между оценками, полученными с помощью разработанного метода, и независимыми оценками на основе таксономического маркера. Сравнение результатов с HumanN3 показало высокую точность и применимость разработанного метода для исследования таких процессов, как ацетогенез, продукция бутирата, сульфатредукция и разложение муцина в кишечнике человека.

Благодарности: бюджетный проект № FWNR-2022–0006.



Выявление роли *fae*-гомологов у метанотрофных бактерий *Methylovium alcaliphilum* 20ZR с помощью контекст-зависимых поточковых математических моделей при культивировании на различных субстратах

М.А. Куляшов¹, Ю.Афшин², С.К. Колмыков¹, Т.С. Соколова¹, Р. Хамилтон², Т.М. Хлебодарова¹,
М.Г. Калюжная², И.Р. Акбердин¹

¹ Университет Сириус, Сириус, Россия

² SDSU, San Diego, USA

kulyashov.ma@talantiuspeh.ru

Ключевые слова: Поточковое моделирование, метанотрофы.

Введение. Использование контекст-зависимых поточковых математических моделей, учитывающих уровни экспрессии генов на основе транскриптомного профилирования, является мощным инструментом для изучения взаимосвязей между генотипом и фенотипом. В данной работе нами было проведено детальное теоретическое исследование молекулярных механизмов регуляции экспрессии генов у бактерии *Methylovium alcaliphilum* 20ZR (далее 20ZR) на основе интеграции оригинальных транскриптомных данных в поточковую метаболическую модель 20ZR.

Материалы и методы. В качестве модели для интеграции транскриптомных данных была использована ранее разработанная модель для 20Z — iA409, которая была дополнительно расширена для учёта металлов, ранее не включенных в модель. Для интеграции использовались оригинальные данные для двух условий роста культуры бактерий на метане: добавление в среду металлов Cu, Ca, W или Cu, La, W.

Результаты. Реконструированная модель для роста в присутствии Ca не показала значимых изменений, в то время как модель для роста в присутствии La продемонстрировала ряд перестроек в метаболизме, ключевой из которых является активность H_4 МРТ пути. Была выдвинута гипотеза, что это может быть связано с высоким уровнем экспрессии гена *fae1-2*. Для верификации этой гипотезы была реконструирована контекст-зависимая модель, где уровень экспрессии генов *fae* был вручную снижен до среднего значения уровня экспрессии генов H_4 МРТ пути. Однако эта модель продемонстрировала сохранения активности в H_4 МРТ пути, что предполагает отсутствие взаимосвязи между уровнем экспрессии *fae1-2* и активности H_4 МРТ пути. Была проведена серия экспериментальных исследований для оценки функциональной роли гомологов гена *fae* у 20ZR для подтверждения предсказаний модели.

Заключение. Таким образом, использование контекст-зависимых моделей дало возможность более детально изучить метаболизм 20ZR в различных условиях культивирования, а также выявить потенциальную активность H_4 МРТ пути при культивировании на La вне зависимости от уровня экспрессии гена *fae1-2*.

Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ (проект № 23-24-00606).



Наличие или отсутствие нерибосомных пептидов существенно влияет на оптимизационные стратегии эффективности элонгации трансляции в бактериальных геномах

Ю.Г. Матушкин¹, А.И. Клименко², С.А. Лашин², Д.А. Афонников¹

¹ Институт цитологии и генетики, Сибирское Отделение Российской Академии Наук

² Институт цитологии и генетики, Сибирское Отделение Российской Академии Наук

mat@bionet.nsc.ru

Уровень экспрессии генов у бактерий в значительной степени определяется эффективностью элонгации трансляции. Мы провели биоинформационный анализ эффективности элонгации кластеров биосинтетических генов (НРПС), полученных из ANTISMASH-DB, используя целые геномные последовательности бактериальных геномов, доступные в NCBI Genbank. Анализ позволил получить информацию о распределении кластеров генов биосинтеза нерибосомных пептидов в бактериях и предполагаемой эффективности элонгации трансляции в этих бактериях. Эффективность элонгации трансляции оценивалась с помощью Индекса Эффективности Элонгации (ИЭЭ) (Лихошвай, Матушкин, 2000).

С помощью этих подходов впервые обнаружена связь между механизмом регуляции трансляции белок-кодирующих генов в бактериях и наличием в геномах кластеров генов биосинтеза нерибосомных пептидов.

Был проведен анализ эффективности элонгации трансляции белок-кодирующих генов 11000 геномов бактерий, часть из которых содержали кластеры нерибосомных пептидов, а другая часть — нет. Оказалось, что геномы, содержащие кластеры нерибосомных пептидов и не содержащие их значимо, отличаются по молекулярным механизмам, которые обеспечивают эффективность трансляции. Так, например, у геномов с нерибосомными пептидами меньшая часть генов регулируется количеством локальных инвертированных повторов (5% с НРП против 12% без НРП), большая часть генов регулируется за счет усреднённой энергии шпилек инвертированных повторов (14% с НРП против 10% без НРП) и дополнительно за счет кодонного состава (17% с НРП и 13% без НРП). Результаты анализа представлены на рисунке.

Разработанный комплекс биоинформатических методов может быть использован для дальнейшей аннотации пептидомов бактерий.

Полученные нами результаты позволяют предположить, что наличие биосинтетических путей нерибосомных пептидов в геномах может оказывать влияние на структуру общего метаболизма бактерий, что выражается и в специфике механизмов рибосомного биосинтеза генов.

1. Лихошвай В. А., Матушкин Ю. Г. (2000) Предсказание эффективности экспрессии генов по их нуклеотидному составу. *Молекуляр. биология.* 34, 406–412.



«Темная материя» бактериального генома: что пропускают системы автоматической аннотации и как с этим бороться

Е.А. Николайчик¹, П.В. Вычик¹, А.В. Дигрис¹, Е.И. Дувалов¹, В.В. Скакун¹

¹ Белорусский государственный университет, Минск
yevgenynikolaichik@gmail.com

Большинство аннотаций бактериальных геномных последовательностей, размещенных в нуклеотидных базах данных, выполнено с использованием автоматических конвейеров аннотации. Среди таких конвейеров *de facto* стандартом можно считать Prokaryotic Genome Assembly Pipeline (PGAP) NCBI, так как именно с его помощью генерируется аннотация RefSeq. Большинство конвейеров, включая PGAP, дают только базовую аннотацию открытых рамок считывания, генов рРНК и тРНК. Из-за значительно большей вариабельности функциональные элементы в интервалах между рамок считывания редко аннотируются. В результате без функциональной аннотации остается порядка 10–15% генома — его «темная материя», от которой в первую очередь зависит уровень экспрессии генов.

До половины бактериальных генов может не экспрессироваться (или экспрессироваться на очень низком уровне) при культивировании в условиях *in vitro*. Условия для активации «молчащих», а также для разнонаправленных изменений уровней транскрипции остальных генов можно обоснованно предположить при наличии корректной аннотации элементов транскрипционного контроля, поэтому такая аннотация существенно повышает полезность депонированных в базах данных геномных последовательностей, а доработка систем аннотации геномов для корректной идентификации регуляторных элементов является актуальной нерешенной задачей геномной биоинформатики. Ключевыми элементами, которые должны присутствовать в аннотации для ее корректного использования, являются:

- сайты связывания транскрипционных факторов (в том числе сигма-факторов, т. е. промоторы),
- терминаторы транскрипции,
- аттенуаторы транскрипции,
- повторы различных типов, в том числе элементы IS и MITE,
- рибопереключатели, термометры и другие регуляторные элементы, определяющие стабильность или активность иРНК,
- гены нкРНК (ncRNA) и т. д.

Мы предлагаем инструменты для анализа регуляторной информации и идентификации повторов в виде кроссплатформенного десктоп-приложения с открытым кодом Sigmoid и web-портала BacRegDB. В основе нашего подхода к анализу регуляторных элементов лежит концепция КО-тега — «ярлыка» из критичных аминокислотных остатков, контактирующих с азотистыми основаниями промоторов/операторов. КО-теги как уникальные идентификаторы пар регуляторного белка и его сайта связывания позволяют корректно переносить регуляторную информацию между геномами. В состав наших программных решений включены:

- инструменты для аннотации операторов, промоторов, терминаторов, повторов,
- конвейер для идентификации операторных и промоторных мотивов *de novo*,
- идентификатор и классификатор транскрипционных факторов,
- утилиты для манипуляций с мотивами: конверсии форматов, инверсии, рандомизации и др.
- средства визуализации мотивов и транскриптомных данных.

В приложении Sigmoid все инструменты интегрированы с мультифункциональным геномным обозревателем. Приложение включает библиотеку из ~4000 регуляторных мотивов. При корректном использовании приложение Sigmoid способно идентифицировать и аннотировать примерно 1/3 «темной материи» бактериального генома как регуляторные элементы или повторы. Активно разрабатываемый в настоящий момент портал BacRegDB сконцентрирован на предоставлении доступа к основным аналитическим инструментам и выборке наиболее качественных регуляторных мотивов с надежной экспериментальной поддержкой.



Поиск и анализ длинных некодирующих РНК в масштабах пан-транскриптома кукурузы

А.Ю. Пронозин¹, Д.А. Афонников¹

¹ Курчатковский геномный центр ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

pronozinartem95@gmail.com

Длинные некодирующие РНК (днРНК) представляют собой класс линейных или кольцевых молекул РНК длиной от 200 нуклеотидов некодирующих белок. К настоящему времени идентифицировано более полумиллиона последовательностей днРНК для различных организмов.

Однако, несмотря на растущее число исследований, структурно-функциональные характеристики днРНК по-прежнему остаются малоизученными. Это связано со множеством факторов, которые нужно учитывать при идентификации днРНК. Размер днРНК схож с размером некоторых генов кодирующих белок, что приводит к ошибкам перепредсказания. Также исследования показывают, что последовательности днРНК претерпевают быструю эволюцию, закономерности которой пока не исследованы. Таким образом, возникает необходимость анализа геномного состава сразу у нескольких представителей вида. Для этих целей были предложены концепции пан-генома и пан-транскриптома.

Однако на сегодняшний день работы, посвященные исследованию пан-транскриптонов, в основном направлены на выявление и исследование новых генов, кодирующих белок. Тогда как работ, посвященных исследованию днРНК в масштабах пан-транскриптонов, не так много, в особенности для растений. Данная работа направлена на расширение знаний о пан-транскриптоме кукурузы за счёт дополнительного анализа днРНК.

В работе использовалось 503 библиотеки инбредных линий кукурузы, полученных в работе [1]. Для сборки и анализа пан-транскриптома был разработан биоинформатический конвейер. В результате получено два пан-транскриптома кукурузы, содержащих кодирующую (белок кодирующие гены) часть и некодирующую (днРНК) часть. Для обоих пан-транскриптомов произведена аннотация, определены ортологичные группы и охарактеризованы консервативная и варибельная части. Также отдельно для пан-транскриптома с некодирующей частью произведен поиск новых днРНК за счет выравнивания полученных транскриптов на базы данных известных днРНК и анализ экспрессии выявленных новых днРНК. Для пан-транскриптома с кодирующей частью произведен анализ терминов GO и анализ экспрессии выявленных новых белок кодирующих генов.

Вычисления проводились с использованием ресурсов ЦКП «Биоинформатика».

1. *Hirsch C. N. et al. Insights into the maize pan-genome and pan-transcriptome // The Plant Cell. — 2014. — Т. 26. — № 1. — С. 121–135.*

Работа выполнена за счет финансирования Курчатковского геномного центра ФИЦ ИЦиГ СО РАН, соглашение с Министерством образования и науки РФ № 075-15-2019–1662.



Метагеномы пчел: как функционирует «общий» геном пчелиного улья

Д. В. Смутин^{1 2}, А. Х. Тальдаев^{3 4}, Е. Е. Лебедев², Л. С. Адонин²

¹ Университет ИТМО, Санкт-Петербург

² Институт экологической и сельскохозяйственной биологии (Х-БИО),
Тюменский государственный университет, Тюмень

³ Институт биомедицинской химии, Москва

⁴ Московский физико-технический институт, Москва

dvsmutin@gmail.com

Пчелиная колония нередко описывается как единый суперорганизм [1], [2], [3]. Огромную роль в его работе играют микроорганизмы. Современная концепция хологенома описывает единство функционирования всех геномов организмов, живущих в составе этого сообщества [4]. Микробиомы не просто влияют на метаболизм пчел [5], а фактически формируют генерализованный ответ на внешние факторы, играя роль иммунной системы [6] и определяя поведение [1] и даже видообразование [2], оставаясь постоянными по качественному и количественному составу [3]. Но за счет чего эта стабильность поддерживается, какую роль играют конкретные представители микробиома и как они передаются между ульями?

В результате литературного анализа и обработки доступных данных по 338 образцам метагеномных shotgun-секвенирований Illumina выделено не менее 15 групп видов, встречающихся во всех ульях. Из них 9 — встречались во всех образцах кишечных метагеномов, 2 — во всех остальных образцах, оставшиеся группы специфичны для конкретного микробиома. Коровые виды кишечника метаболически зависимы друг от друга [5], что подтверждается и для других микробиомов. Филогенетический анализ линий *Apilactobacillus kunkeei* свидетельствует о различии их функций между метагеномами и свидетельствует о том, что разные линии независимо передаются между ульями.

Больше всего изучается кишечная микрофлора пчел. У взрослых особей всего 5 групп бактерий представляют 98% биомассы микробиома кишечника, в то время как кишечник куколки на поздних стадиях почти не содержит микробиоты, что делает их отличным модельным объектом для изучения заселения кишечника [1]. Другие микробиомы улья (микроорганизмы меда, маточного молочка, пыльца и ячеек) намного сложнее в изучении и исследованы меньше [3]. Однако и они характеризуются высокой стабильностью. Это делает оправданным использование пан-метагеномного подхода в дальнейших работах, которых может значительно улучшить качество исследований.

- [1] Kwong W. K. and Moran N. A. Gut microbial communities of social bees // *Nat. Rev. Microbiol.*, vol. 14, no. 6, pp. 374–384, Jun. 2016, doi: 10.1038/nrmicro.2016.43.
- [2] Kwong W. K. and Moran N. A. Evolution of host specialization in gut microbes: the bee gut as a model // *Gut Microbes*, vol. 6, no. 3, pp. 214–220, 2015, doi: 10.1080/19490976.2015.1047129.
- [3] Smutin D., Lebedev E., Selitskiy M., Panyushev N., and Adonin L. Micro «bee»ota: Honey Bee Normal Microbiota as a Part of Superorganism // *Microorganisms*, vol. 10, no. 12, Nov. 2022, doi: 10.3390/microorganisms10122359.
- [4] Schwarz R. S., Huang Q. and Evans J. D. Hologenome theory and the honey bee pathosphere // *Curr. Opin. Insect Sci.*, vol. 10, pp. 1–7, Aug. 2015, doi: 10.1016/j.cois.2015.04.006.
- [5] Bonilla-Rosso G. and Engel P. Functional roles and metabolic niches in the honey bee gut microbiota // *Curr. Opin. Microbiol.*, vol. 43, pp. 69–76, Jun. 2018, doi: 10.1016/j.mib.2017.12.009.
- [6] Morfin N., Anguiano-Baez R., and Guzman-Novoa E. Honey Bee (*Apis mellifera*) Immunity // *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, vol. 37, no. 3, pp. 521–533, Nov. 2021, doi: 10.1016/j.cvfa.2021.06.007.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы (соглашение № 075-15-2021-1345, Уникальный идентификатор проекта RF-193021X0012).



Моделирование регуляторного модуля, ответственного за активацию цветения у бобовых при яровизации

М.А. Дук¹, М.А. Дук², В.В. Гурский², М.Г. Самсонова¹, С.Ю. Суркова¹

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

² Физико-технический институт имени А. Ф. Иоффе, Санкт-Петербург

sestr_sve@mail.ru

Молекулярные механизмы яровизационно-опосредованного перехода к цветению детально исследованы у *Arabidopsis thaliana*, но остаются в значительной степени неясными у бобовых. Ортологи гена *FLOWERING LOCUS C (FLC)*, основного регулятора ответа на яровизацию у *Arabidopsis*, отсутствуют или нефункциональны у большинства бобовых умеренного климата. Тем не менее было показано, что интеграторы генных сетей цветения *FLOWERING LOCUS T (FT)* и *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CONSTANS 1 (SOC1)* у бобовых задействованы в реакции на яровизацию. Однако их регуляторный вклад в активацию экспрессии генов идентичности меристем остается неизученным. С помощью математического моделирования мы провели анализ базового регуляторного модуля, включающего гены *FT*, несколько генов *SOC1* и ген *PROLIFERATING INFLORESCENCE MERISTEM (PIM)*, запускающий регуляторный каскад, приводящий к формированию органов цветка.

Анализ теоретической модели показал, что у бобовых действие нескольких генов *SOC1* как промежуточных активаторов обеспечивает более эффективную активацию *PIM* геном *FT* и снижение вариабельности экспрессии *FT* [1]. Также, на основе ранее опубликованных данных по экспрессии генов [2], мы разработали и проанализировали четыре модели активации *PIM* при яровизации и без нее у люцерны *Medicago truncatula* дикого типа и мутантов *fta1-1*. Модель, включающая продукт гена *FTa1*, активирующий *PIM* как напрямую, так и через промежуточные регуляторы *SOC1a*, *SOC1b* и *SOC1c*, наилучшим образом описала экспериментальные данные. В этой модели разница между регуляторными вкладами *SOC1* была несущественной, что предполагало их кумулятивное действие [1].

Разработанные модели могут быть расширены дополнительными взаимодействиями и адаптированы для других видов бобовых по мере поступления новых экспериментальных данных.

- [1] Duk, M. A.; Gursky, V. V.; Samsonova, M. G.; Surkova, S. Y. Modeling the Flowering Activation Motif during Vernalization in Legumes: A Case Study of *M. truncatula*. *Life* 2024, 14, 26. doi: 10.3390/life14010026.
- [2] Fudge, J. B.; Lee, R. H.; Laurie, R. E.; Mysore, K. S.; Wen, J.; Weller, J. L.; Macknight, R. C. *Medicago truncatula* SOC1 Genes Are Up-regulated by Environmental Cues That Promote Flowering. *Front Plant Sci.* 2018 Apr 27;9:496. doi: 10.3389/fpls.2018.00496.

Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00203.



Нарушение *mTOR*-зависимой аутофагии при болезни Паркинсона, ассоциированной с мутациями в гене *GBA1*, на основе анализа транскриптома

Т. С. Усенко^{1,2}, А. И. Безрукова^{1,2}, К. С. Башарова¹, М. М. Руденок³, И. В. Милюхина⁴, Е. Ю. Захарова⁵,
П. А. Сломинский³, С. Н. Пчелина^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина

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

³ Институт молекулярной генетики Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Москва

⁴ Институт мозга человека РАН, Санкт-Петербург

⁵ Медико-генетический научный центр имени академика Н. П. Бочкова, Москва

tatiana.s.usenko@gmail.com

Мутации в гене *GBA1*, кодирующем лизосомный фермент глюкоцереброзидазу (*GCase*), являются факторами высокого генетического риска распространённого нейродегенеративного заболевания болезни Паркинсона (БП). Молекулярные механизмы БП, ассоциированной с мутациями в гене *GBA1*, остаются неизвестными. (*GBA1*-БП). Более того, не у всех носителей мутаций в гене *GBA1* развивается БП в течение жизни. Цель данного исследования заключалась в поиске молекулярных биомаркеров и потенциальных мишеней для терапии *GBA1*-БП на основе анализа транскриптома клеточных и животных моделей паркинсонизма с дисфункцией *GCase*. Полнотранскриптомный анализ с последующим анализом дифференциальной экспрессии генов был проведен в клетках черной субстанции (ЧС) головного мозга мышей с 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (МФТП)-индуцированной моделью паркинсонизма и с дисфункцией фермента *GCase* и соответствующих групп сравнения (раствор хлорида натрия (NaCl) (контроль), МФТП, кондуритол-бэта-эпоксид (СВЕ), сочетанное введение МФТП и СВЕ (МФТП/СВЕ), а также первичной культуры макрофагов пациентов с *GBA1*-БП и соответствующих групп сравнения (бессимптомные носители мутаций в гене *GBA1* (*GBA1*-носителей) и контроль) с последующей валидацией полученных результатов в мононуклеарах периферической крови пациентов с *GBA1*-БП, со спорадической БП, *GBA1*-носителей и контроле методом количественной полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. В результате были получены списки дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГи) и показано, что включенные в исследование модели паркинсонизма с дисфункцией *GCase* характеризуются выраженным нарушением экспрессии генов, вовлеченных в путь *PI3K/Akt/mTOR*, которое было подтверждено и в ходе валидации результатов, в частности генов *DUSP1*, *NR4A2*, *ARLAC*, *DDIT4*. Более того, показано, что нарушение экспрессии генов пути *PI3K/Akt/mTOR* ассоциировано с изменением экспрессии генов, продукты которых участвуют в процессах аутофагии, регулируемых данным путем (*mTOR*-зависимая аутофагия), а именно генов *MAP1LC3B* и *mTOR*. Следует отметить, что именно нарушение аутофагии рассматривается как одно из ключевых звеньев патогенеза БП. Таким образом, можно предположить, что *mTOR*-зависимая аутофагия может рассматриваться как потенциальная терапевтическая мишень для БП, ассоциированной с мутациями в гене *GBA1*.

Исследование поддержано грантом РНФ 24-25-00212.



Математические модели, объединяющие экологический и генетический подходы в математической популяционной биологии

Е.Я. Фрисман¹

¹ ИКАРП ДВО РАН

frisman@mail.ru

В наших исследованиях мы попытались объединить «экологический поход», развиваемый в работах Р. Мея и А. П. Шапиро, которые рассматривали **динамику численности** экологически лимитированных популяций, с подходом эволюционистов (популяционных генетиков), развиваемом в работах Р. Фишера и др., которые описывали **эволюцию** «свободных» нелимитированных популяций. Мы рассмотрели модельный пример, когда репродуктивный потенциал особей определяется генетически, и преобразовали уравнения динамики численностей популяции, добавив к ним уравнения динамики частот генов, характеризующие изменение генетической структуры в ходе эволюции.

Мы показали, что различные типы динамики численности: переход к равновесию, возникновение регулярных колебаний численности, выход на хаотический режим — могли бы последовательно возникать в эволюции лимитированной популяции под действием плотностно-независимого естественного отбора. Такой отбор приводит к изменению частот аллелей и повышает среднюю приспособленность популяции в соответствии с фундаментальной теоремой естественного отбора Р. Фишера.

Затем мы исследовали более сложные нелинейные модели динамики популяций с возрастной структурой. Оказалось, что увеличение средней индивидуальной приспособленности приводит к весьма сложным динамическим режимам популяции (согласно современной научной терминологии: к возникновению хаотических аттракторов, вид и размерность которых меняются при изменении параметров модели). Принципиально новым является обнаруженная здесь возможность возникновения устойчивых колебаний не только численности, но и частот генов.

Разработанные нами модели позволили объяснить происхождение различий в генетической структуре у смежных поколений тихоокеанской горбуши *Oncorhynchus gorbuscha*. Такие различия выявлены биологами у многих локальных субпопуляций горбуши. Также наши модели хорошо объясняют полиморфизм (существующего генетического разнообразия) по размеру помета в различных (естественных и искусственных — фермерских) популяциях песцов *Alopex lagopus*. Кроме того, разработанные нами модели позволяют объяснить как возникновение, так и прекращение колебаний численности ряда видов грызунов, которое наблюдается в последнее время во многих северных популяциях Западной Европы (например, исчезновения популяционных циклов полевков в ряде популяций Финляндии и Швеции).



Онтологический подход к анализу дифференциальной экспрессии генов на основе больших транскриптомных данных

Д.Ю. Ощепков¹, С.Г. Шихевич¹, О.Е. Редина¹, И.В. Чадаева¹, Р.В. Кожемякина¹, К. Золотарева¹, Б. Хандаев¹, Е.Б. Шарыпова¹, П.М. Пономаренко¹, А.Г. Богомолов¹, Н.В. Климова¹, Н.Г. Колосова¹, М. Назаренко², Н.А. Колчанов¹, А.Л. Маркель¹, М.П. Пономаренко¹

¹ ИЦиГ СО РАН Новосибирск

² Институт Медицинской генетики, Томск

ichadaeva@bionet.nsc.ru

Развитие методов анализа данных высокопроизводительного секвенирования транскриптомов (РНК-сек) требует новых подходов, в том числе за счет привлечения всего накопленного массива накопленных полногеномных данных. Здесь мы представляем один из примеров использования больших массивов транскриптомных данных к анализу списка дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ), выявленных при анализе профилей экспрессии генов в гиппокампе ручных и агрессивных крыс селекции ИЦиГ СО РАН [1]. Крысы этих линий характеризуются низкой и высокой стресс-реактивностью, соответственно, увеличение которой повышает риск развития гипертонии. Проведенный анализ выявил 42 ДЭГ, отличающих две эти группы крыс. Были сформированы две выборки всех доступных транскриптомных данных, полученных на нескольких модельных видах животных (4216 ДЭГ) с гипертонией, и у человека (7865 ДЭГ) при сравнении пациентов-гипертоников с условно здоровыми людьми. В каждой выборке были выделены гомологи 42-х ДЭГ крыс, связанных с реактивностью к стрессу, 151 и 157 гомологов, соответственно. Проведенный анализ в каждой из выборок выявил значимую корреляцию между изменениями уровней экспрессии, полученными в экспериментах со стресс-реактивностью на ручных и агрессивных крысах, и в экспериментах по гипертонии для гомологичных генов животных и человека. Анализ этих зависимостей методом главных компонент позволил нам получить выражения для двух главных компонент, одна из которых соответствовала гипертонии, а вторая — стресс-реактивности. На последнем этапе для каждого из выявленных 42 ДЭГ в гиппокампе ручных и агрессивных крыс и соответствующих гомологичных ДЭГ человека мы определили количество гомологичных пар ДЭГ, имеющих совпадающие знаки для главных компонент, вычисленные на основе соответствующих \log_2 -значений изменений экспрессии, и их статистическую значимость. Среди всех проанализированных генов наш анализ позволил выявить как значимое подавление уровня экспрессии β -протокадгерина и гемоглобина, определить эти гены в качестве полногеномных молекулярных маркеров гипертонии и связать их с большим внутренним диаметром сосудов и низкой вязкостью крови, соответственно [1].

[1] Oshchepkov D., Chadaeva I., Kozhemyakina R., Zolotareva K., Khandaev B., Sharypova E., Ponomarenko P., Bogomolov A., Klimova N. V., Shikhevich S., Redina O., Kolosova N. G., Nazarenko M., Kolchanov N. A., Markel A., Ponomarenko M. Stress Reactivity, Susceptibility to Hypertension, and Differential Expression of Genes in Hypertensive Compared to Normotensive Patients. *Int J Mol Sci.* 2022 Mar 4;23(5):2835. doi: 10.3390/ijms23052835.

Работа выполнена за счет финансирования бюджетного проекта FWNR-2022-0020 и Курчатовского геномного центра, номер соглашения 075-15-2019-1662. Вычисления проводились с использованием ресурсов ЦКП «Биоинформатика».

Симпозиум 4: Медицинская генетика и моделирование болезней
человека

Symposium 4: Medical Genetics and Modeling of Human Diseases



Таргетная терапия наследственных форм болезни Паркинсона на основе ингибирования киназной активности, обогащенной лейциновыми повторами киназы 2 (*LRRK2*)

К.С. Башарова¹, А.И. Безрукова^{1,2}, Е.В. Григорьева³, С.В. Павлова³, Г.В. Байдакова⁴,
А.Д. Изюмченко^{1,2}, М.А. Николаев^{1,2}, И.В. Милюхина^{1,2,5}, С.П. Медведев³, Е.Ю. Захарова⁴,
С.Н. Пчелина^{1,2}, Т.С. Усенко^{1,2}

¹ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова) НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина

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

³ ФГБНУ Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск

⁴ Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова, Москва

⁵ Институт мозга человека РАН, Санкт-Петербург

kbasharova@yandex.ru

Мутации в генах *LRRK2* и *GBA1*, кодирующих обогащенную лейциновыми повторами киназу 2 (*LRRK2*) и лизосомный фермент глюкоцереброзидазу (*GCase*), соответственно, — распространенные генетические причины болезни Паркинсона (БП). Патогенез БП, в том числе наследственных форм, остается неизвестным. Однако последние данные указывают на ключевую роль дисфункции лизосом. Ранее было показано, что *GCase* и *LRRK2* функционально взаимосвязаны и вовлечены в эндо-лизосомный путь.

Цель: оценка ассоциации киназной активности *LRRK2* с биохимическими параметрами лизосомной активности в пациент-специфичных клетках пациентов с БП и клеточной линии нейробластомы человека SH-SY5Y.

В исследование были включены первичная культура макрофагов периферической крови (макрофаги) пациентов с *GBA1*-ассоциированной БП (*GBA1*-БП) ($N=9$), *LRRK2*-ассоциированной БП (*LRRK2*-БП) ($N=4$) и контроля ($N=8$), культура дофаминергических нейронов, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, (ИПСК-ДН) пациентов с *GBA1*-БП ($N=1$), *LRRK2*-БП ($N=1$) и контроля ($N=1$), и клеточная линия SH-SY5Y, которые культивировались в присутствии и без селективного ингибитора киназной активности *LRRK2* MLi-2. Активность лизосомных гидролаз оценивали методом ВЭЖХ-МС/МС, относительный уровень белков *GCase* и альфа-синуклеина — методом вестерн-блота.

Активность *GCase* была снижена в макрофагах *GBA1*-БП и *LRRK2*-БП по сравнению с контролем и в ИПСК-ДН *GBA1*-БП по сравнению с контролем и *LRRK2*-БП ($p < 0,05$). Ингибирование киназной активности *LRRK2* приводило к увеличению активности *GCase* в макрофагах пациентов с *GBA1*-БП, ИПСК-ДН пациентов с *GBA1*-БП, *LRRK2*-БП и контроля и в клетках SH-SY5Y ($p < 0,05$). В присутствии MLi-2 макрофаги пациентов с *GBA1*-БП и клетки SH-SY5Y характеризовались увеличением активности ASMase, GLA, GALC и относительного уровня *GCase*, а ИПСК-ДН пациентов с *GBA1*-БП и контроля — увеличением активности ASMase, GLA ($p < 0,05$). Дозозависимое ингибирование киназной активности *LRRK2* MLi-2 в клетках SH-SY5Y приводило к снижению соотношения фосфорилированного по серину 129 к мономерному альфа-синуклеину и увеличению соотношения тетрамерного к мономерному альфа-синуклеину ($p < 0,05$).

Полученные результаты расширяют представления о вкладе *LRRK2* в патогенез БП, а также указывают на перспективы использования ингибиторов *LRRK2* в качестве терапии наследственных форм БП.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 1023031500037-7-1.6.8;1.6.1;1.6.2;1.6.3).



Гены, кодирующие белки-герои (*Hero*) — новые «игроки» в риске развития ишемического инсульта

О.Ю. Бушueva¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации»
olga.bushueva@inbox.ru

В 2020 г. японскими учеными обнаружен класс белков, сохраняющих свою активность при высокой температуре, названных «heat-resistant obscure» (*Hero*, герои). Белки-герои демонстрируют шапероноподобные свойства, что предполагает их потенциально значимую роль в регуляции сосудистого гомеостаза и нейропротекции.

Целью данной работы стал анализ 115 полиморфных вариантов, включающих гены *Hero* (*C9ORF16*, *C11ORF58*, *BEX3*, *SERBP1*, *SERF2*, *C19orf53* — суммарно 33 локуса), шапероны, кошапероны и их регуляторы (59 локусов), а также варианты, установленные GWAS (23 локуса), в аспекте связи с риском развития ишемического инсульта (ИИ). Генотипирование выполнено на выборке популяции Центральной России общим объемом 2000 человек, включающей 1000 больных ИИ/ 1000 контрольных индивидуумов с использованием генетического анализатора MassARRAY-4 (США) и Real-Time CFX96 (США). Экспрессию генов *Hero* в периферической крови анализировали методом количественной ПЦР на приборе CFX96.

В результате проведенного анализа ассоциаций SNPs в общей группе больных/контроля, установлены связи 7 SNPs генов *Hero*, 4 SNPs генов белков теплового шока и их корегуляторов, 6 SNPs генов GWAS. Выявлено, что пол и средовые факторы риска (курение и уровень потребления свежих овощей и фруктов) выступают в качестве модификаторов ассоциаций полиморфных локусов генов *Hero* и других шаперонов с риском развития ИИ. Анализ межгенных ($G \times G$) взаимодействий методом MB-MDR установил, что наилучшие $G \times G$ -модели формировались из полиморфных вариантов генов *Hero* (в первую очередь *C19orf53* и *C11orf58*) во взаимодействии с локусами GWAS. Наилучшие модели генно-средовых ($G \times E$) взаимодействий формировались за счет курения и полиморфных локусов генов шаперонов, в т.ч. кодирующих белки теплового шока и их регуляторы, а также гены *Hero*. Биоинформатический анализ выявил высокий регуляторный потенциал SNPs *Hero*, характеризующийся влиянием на связи с локусами количественных признаков, транскрипционными факторами. Проведенный сравнительный анализ экспрессии генов *Hero* на образцах, выделенных из крови, показал различия между контролем и больными в острейшей фазе инсульта в уровне экспрессии 2 генов: *C19orf53* ($P = 0,01$) и *SERBP1* ($P = 0,01$).

Данное исследование впервые в мире установило роль генов *Hero* в риске ИИ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 22-15-00288, <https://rscf.ru/project/22-15-00288/>).



Транскриптомный анализ образцов первичных моноцитов крови, полученных от больных COVID-19 с летальными и нелетальными исходами

И.Н. Власов¹, Т.С. Усенко², А.А. Пантелеева², М.А. Николаев², А.Д. Изюмченко², Е.Г. Гаврилова³,
И.В. Шлык³, Ю.С. Полушин³, С.Н. Пчелина², М.И. Шадрина¹, П.А. Сломинский¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт», Площадь Академика Курчатова, 2, 123182, Москва, Россия

² Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», 188300 Санкт-Петербург, Россия

³ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, 197022 Санкт-Петербург, Россия

invlasov@mail.ru

К началу 2024 года пандемия COVID-19 унесла жизни более 4 млн человек во всем мире. Для того, чтобы изучить механизмы летального исхода при COVID-19, было проведено исследование дифференциальной экспрессии между больными с тяжелым течением COVID-19, чьи случаи закончились летальным исходом и выздоровлением. Работа проводилась на двух выборках — группе больных, зараженных штаммами α и β , и группе больных, зараженных штаммом δ . Транскрипционные профили были получены при помощи RNA-seq из первичных моноцитов крови на момент помещения пациентов в ОРИТ первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова. Три различных биоинформатических подхода были использованы, и общие гены, выявленные во всех трех подходах, были исследованы в дальнейшем анализе.

В выборке пациентов, инфицированных штаммами α и β , в группе погибших было выявлено снижение экспрессии групп генов, связанных с активностью рецепторов липидов низкой плотности, дифференцировкой лейкоцитов и внутриклеточным транспортом. В частности, была выявлена пониженная экспрессия генов *PPARG*, *CD36*, *STAB1*, *ITGAV* и *ANXA2*.

В выборке пациентов, инфицированных штаммом δ , между группами выживших и погибших была выявлена дифференциальная экспрессия групп генов, связанных с негативной регуляцией процесса заражения вирусом, активация системы комплемента и негативной регуляции иммунного ответа. В частности, была выявлена дифференциальная экспрессия таких генов, как *C1QB*, *C1QA*, *ISG15*, *SERPING1*, *VSIG4*, *KLRD1*, *TRPM4* и *HFE*.

Таким образом, можно заключить, что механизмы развития летального исхода в процессе заражения COVID-19 могут быть специфичны для штамма вируса и включать в себя как иммунные, так и другие метаболические процессы.

Работа выполнена в рамках темы 5Ф1.9 НИЦ «Курчатовский институт».



Роль альтернативного сплайсинга в патогенезе преэклампсии

М.М. Гавриленко¹, А.А. Бабовская¹, А.А. Зарубин¹, Е.А. Трифонова¹, В.А. Степанов¹

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томского национального исследовательского
медицинского центра, Российская академия наук, Томск, 634050 Россия

mmgavrilenko@gmail.com

Альтернативный сплайсинг (АС) — это процесс модификации пре-мРНК путем рекомбинации экзонов, приводящий к различным транскриптам мРНК одного гена. Ряд исследований показал, что гены, подверженные АС, могут играть важную роль в патогенезе заболеваний. Актуальным представляется изучение ландшафта АС в клетках, которые непосредственно участвуют в развитии патологии. Децидуальные клетки плаценты (ДК) выполняют ключевую роль в поддержании физиологической беременности (ФБ), их дисфункция может привести к развитию преэклампсии (ПЭ). Таким образом, ДК являются наиболее интересным объектом для анализа событий АС.

Нами впервые в мире проведен полнотранскриптомный анализ событий АС в ДК плаценты женщин с ФБ и ПЭ. Исследование выполнено с помощью программы MAJIQ, которая идентифицирует бинарные («классические») события АС и комплексные (LSV события, состоящие из нескольких бинарных или небинарных событий).

В группе ПЭ идентифицировано 3893 события АС, которые приходятся на 2814 генов. Из выявленных событий АС: комплексных LSVs-791 (20,3%), классических бинарных событий — 3102 (79,7%). Наиболее распространенным типом АС для аннотированных событий является пропуск экзона, тогда как для *de novo* — удержание интрона. Генами, наиболее подверженными АС, являются *ADAM12*, *RASA1*, *SEC31A*, *CAST*. Обнаружено, что LSVs события имеют более многогранную и сложную структуру при ПЭ, чем при ФБ. Так, ген *DDX60L* в группе с ПЭ имеет меньшее количество LSVs событий АС, но внутри эти комплексы имеют суммарно 35 вариантов событий, что в два раза больше группы с ФБ. В ходе анализа дифференциального АС между ФБ и ПЭ идентифицированы 66 генов, которые вовлечены в развитие кровеносных сосудов (GO:0001568), регуляцию развития многоклеточных организмов (GO:2000026) и др. Выявлено, что среди этих 66 генов *GTF2I* и *MME* наиболее подвержены АС. Интересно, что для гена *MME* зафиксированы изменения как в экспрессии и метилировании [1], так и в сплайсинге [2] в плацентарной ткани при ПЭ в сравнении с ФБ.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что альтернативный сплайсинг значительно увеличивает транскрипционное разнообразие в децидуальных клетках плацентарной ткани при преэклампсии.

- [1] Jiang L. et al. Methylation-based epigenetic studies and gene integration analysis of preeclampsia // *Annals of Translational Medicine*. 2022;10(24):1342.
- [2] Ruano C. S. M. et al. Alternative splicing in normal and pathological human placentas is correlated to genetic variants // *Human Genetics*. 2021;140:827–848.



Секвенирование экзома человека и перспективы предиктивной медицины: анализ международных данных и собственного опыта. Развитие концепции медицины ЗП проф. В. С. Баранова

О. С. Готов¹

¹ ФГБУ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург; ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д. О. Отта», Санкт-Петербург;

olglotov@mail.ru

Научно-технические достижения последних десятилетий в биологии и медицине привели к появлению новых высокотехнологичных методов ранней диагностики и открыли путь к идентификации генетических маркеров и внедрению новых стратегий скрининга в клиническую практику. Все эти достижения дали толчок к смене парадигмы во всей системе здравоохранения и позволили перейти от групповой к прогностической или профилактической персонализированной медицине (ПМ) и терапии, опирающейся на клинический диагноз, стадию заболевания, пол и возраст пациента, а также на индивидуальные профили молекулярно-генетических биомаркеров, ассоциированных с развитием патологии, прогнозом, исходом и эффективностью лечения.

Достижения генетики и информационных технологий позволили проф. В. С. Баранову сформировать концепцию медицины ЗП и генетического паспорта человека.

Разработка технологии секвенирования нового поколения (NGS) способствовала развитию данной концепции, привела к обоснованию использования полноэкзомного секвенирования (WES) для идентификации новых генов-кандидатов, генетических вариантов и молекулярных механизмов при диагностике, прогнозировании и лечении моногенных, олигогенных и многофакторных заболеваний.

На примере собственных данных экзомного секвенирования нами определены факторы риска социально-значимых заболеваний и разработаны методологические подходы для выявления клинически значимых генных вариантов с целью оценки риска развития моногенной, олигогенной и мультифакториальной патологии, тяжести протекания некоторых вирусных инфекционных заболеваний у человека.

Представлены данные применения NGS у пациентов с различными заболеваниями; получены новые данные о распространенности моногенных заболеваний; впервые описаны новые патогенные варианты; описаны клинические случаи нескольких наследственных заболеваний у одного человека; показано, что эффективность NGS увеличивает диагностическую выявляемость; показана эффективность идентификации генов-кандидатов сахарного диабета 2 типа и ожирения, а также новой коронавирусной инфекции COVID-19 при помощи экзомного секвенирования и оригинальных биоинформационных подходов для небольших когорт больных; подчеркивается отсутствие четкой грани между моногенными, олигогенными и МФЗ; продемонстрирован обширный потенциал применения WES и рассмотрены его преимущества и недостатки. Таким образом, WES может стать общим тестом с широким спектром применений, включая оппортунистический скрининг.

Поэтому, на основании вышеизложенного, в продолжении развития концепции медицины ЗП и генетического паспорта человека проф. В. С. Баранова, нами предложена концепция генетического клинического паспорта здоровья и новая методология определения генетических детерминант с последующей интерпретацией найденных вариантов, которая подтверждает клиническое значение генетических предикторов при формировании групп риска моногенных, мультифакториальных заболеваний и новой коронавирусной инфекции COVID-19.



Генетические и эпигенетические факторы, влияющие на уровень α-синуклеина при болезни Паркинсона

А.К. Емельянов^{1 2}, А.О. Лавринова¹, А.С. Журавлев^{1 2}, Г.В. Байдакова³, И.В. Милюхина⁴,
М.И. Шадрина⁵, Е.Ю. Захарова³, С.Н. Пчелина^{1 2}

¹ НИЦ «Курчатовский Институт» – ПИЯФ, Гатчина

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

³ ФГБНУ «МГНЦ им Н.П. Бочкова», Москва

⁴ Институт мозга человека им. Н.П. Бехтеревой РАН, Санкт-Петербург

⁵ НИЦ «Курчатовский институт» – ИМГ, Москва

e_anton_gen@mail.ru

Болезнь Паркинсона (БП) — нейродегенеративное заболевание, ассоциированное с гибелью дофаминергических нейронов черной субстанции головного мозга, обусловленной агрегацией в них белка α-синуклеина (SNCA). Наиболее распространенным фактором повышенного риска развития БП являются мутации в гене глюкоцереброзидазы (GBA1), влияющие на активность фермента (GCase) и концентрацию его субстрата гексозилсфингозина (HexSph). Как однонуклеотидные варианты (ОНВ) гена SNCA, так и изменения в степени метилирования интрона 1 данного гена могут влиять на его экспрессию.

Целью настоящего исследования являлась оценка влияния вариантов генов SNCA и GBA1, степени метилирования геномной ДНК и активности GCase на уровень α-синуклеина в клетках крови пациентов с БП и контроле, а также влияния дисфункции GCase на олигомеризацию α-синуклеина на модельных животных. В исследование были включены пациенты с мутациями в гене GBA и БП (GBA-БП), со спорадической формой БП и лица контрольной группы. Скрининг вариантов генов GBA1 (N370S, L444P) и SNCA (rs356168, rs2619364, rs11931074, rs3756063) проводился с использованием ПЦР-рестрикционного анализа. CD45+ клетки выделялись из периферической крови магнитной сепарацией. Оценка метилирования интрона 1 гена SNCA проводилась с использованием бисульфитного секвенирования на приборе MiSeq (Illumina, США). Уровень 5mC, α-синуклеина был оценен с использованием метода ИФА. Подавление активности GCase у мышей проводилось с использованием кондукритола-бета-эпоксида (СВЕ). Оценка активности GCase и HexSph проводилась методом ВЭЖХ-МС/МС. Уровень олигомерного α-синуклеина в клетках мозга модельных животных оценивался методом вестерн-блоттинга.

Показано, что rs356168, rs2619364 и rs11931074 гена SNCA ассоциированы с повышенным риском развития БП у жителей Северо-Западного региона России. Аллель «риска» rs356219*G локуса гена SNCA был ассоциирован с повышением уровня α-синуклеина CD45+ клеток периферической крови у пациентов с БП. Уровень α-синуклеина CD45+ клеток крови был повышен у пациентов с БП с мутациями в гене GBA1 (GBA-БП) и обратно коррелировал с активностью GCase в крови пациентов. Из всех исследуемых генетических вариантов мутации в гене GBA ассоциированы с наибольшим повышением уровня α-синуклеина в CD45+ клетках крови. Не выявлено статистически значимых различий при сравнении степени метилирования интрона 1 гена SNCA, а также уровня глобального метилирования (5mC) в CD45+ клетках пациентов с БП и контроля. Также не обнаружено корреляций между уровнем α-синуклеина и степенью метилирования геномной ДНК, а также интрона 1 гена SNCA в CD45+ клетках крови пациентов с БП. Введение СВЕ (100 мг/кг) мышам приводило к снижению активности GCase (более 50%) в гомогенатах различных отделов мозга животных, а также повышению уровня олигомерного α-синуклеина в лизатах ткани стриатума по сравнению с контролем.

Полученные данные позволяют предположить, что дисфункция лизосомных ферментов приводит к увеличению уровня альфа-синуклеина в CD45+ клетках крови пациентов с БП, а также его олигомеризации в клетках мозга мышей.

Исследование поддержано грантом РФФ 24-25-00397.



IQGAP3 координирует широкий спектр сигнальных каскадов в кератиноцитах при воспалении

А.Д. Золотаренко¹, С.А. Брускин¹

¹ ИОГен РАН

zalenkainbox@gmail.com

IQGAP3 является членом семейства скаффолд-белков, которые опосредуют сборку мультибелковых комплексов, организуя внутриклеточные сигнальные пути. Белки IQGAP координируют передачу сигналов от рецепторов ростовых факторов, каскады пролиферации и дифференцировки клеток, эпителиально-мезенхимальный переход, PI3K/AKT/mTOR-каскад и многие другие пути, в которых участвуют MAP-киназы, малые GTPазы и β -аррестины. Каждый из членов семейства характеризуется уникальными тканевыми профилями экспрессии и ассоциирован с различными типами опухолей. Из трех белков семейства в коже представлены IQGAP1 и IQGAP3, первый широко экспрессируется во всех слоях эпидермиса, а второй обнаружен только в пролиферирующих кератиноцитах базального слоя и практически отсутствует в постмитотических клетках более дифференцированных слоев. Одним из воспалительных заболеваний кожи, патогенез которого связан с избыточной пролиферацией кератиноцитов, является псориаз. Поскольку данная патология связана с активным сигналингом MAPK- и PI3K/AKT/mTOR-путей, изменением профилей дифференцировки кератиноцитов и их частичным эпителиально-мезенхимальным переходом, было решено исследовать участие IQGAP3, как потенциального координатора вышеперечисленных каскадов, в развитии псориазического фенотипа кератиноцитов.

В работе были получены кератиноциты с индуцибельным нокдауном *IQGAP3*. Клетки были обработаны провоспалительными цитокинами, характерными для псориаза, и их транскриптом был проанализирован путем RNAseq. Анализ показал, что реакция клеток на провоспалительную стимуляцию была изменена, и нокдаун затронул сигнальные каскады транскрипционного фактора NF κ B, пути передачи сигналов через рецептор EGFR, киназные каскады p38/MAPK и ERK1/ERK2, пути выработки цитокинов и метаболизма липидов. Анализ роста клеток в реальном времени выявил изменения пролиферации и скорости заращения царапины.

Исследование показало, что нокдаун *IQGAP3* изменял баланс между пролиферацией и апоптозом клеток, а также подавлял многие сигнальные каскады, индуцированные провоспалительными цитокинами. Поскольку не все наблюдаемые на фоне нокдауна изменения имели положительную терапевтическую значимость в контексте псориаза, был сделан вывод, что IQGAP3 является важным регулятором каскадов воспаления, однако при псориазе он не является оптимальной мишенью для нормализации фенотипа кератиноцитов.



Спектр генетических нарушений при лекарственно-устойчивой эпилепсии у детей в Республике Беларусь

А.С. Иванова¹, С.Л. Куликова², В.В. Александрович³, О.Д. Левданский³, М.Г. Синявская³,
Н.Г. Даниленко³, Л.Н. Сивицкая⁴, И.М. Голоенко³, О.Г. Давыденко³

¹ NOVEL SOFTWARE SYSTEMS, Novosibirsk, Russia

² РНПЦ Неврологии и нейрохирургии МЗ Беларуси, Минск, Беларусь

³ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

⁴ Diagnostic Department Genomed Health Care Centre Warsaw, Poland

m.sin@inbox.ru

Введение. Незнание генетической этиологии заболевания является серьезной проблемой в терапии эпилепсии, так как более половины всех случаев этого заболевания у детей ассоциированы с генетическими причинами [1]. Благодаря успехам в развитии и использовании геномных технологий имеется представление о генетической природе ряда синдромов фармакорезистентной эпилепсии. В ходе разработки алгоритма для диагностики лекарственно-устойчивой эпилепсии у детей в Республике Беларусь, был выявлен спектр генетических нарушений при данном неврологическом заболевании у исследованных пациентов.

Цель и задачи. Целью работы было установление генетической причины эпилепсии для группы пациентов на основании разработанных клинико-генетических критериев.

Материалы и методы. В исследование было включено 60 пациентов с фармакорезистентной эпилепсией. Все пациенты проходили обследование в РНПЦ Неврологии и нейрохирургии (Минск, Беларусь) и включались в группу исследования в соответствии с критериями отбора. Фенол-хлороформной экстракцией получена ДНК буккального эпителия пациентов. Секвенирование проводилось на приборе NextSeq 550 (Illumina Inc., USA) с использованием коммерческой панели TruSight One Expanded Sequencing Panel, охватывающей более 6700 генов. Биоинформатический анализ массива данных NGS выполнен с помощью DRAGEN Enrichment, DRAGEN CNV BaselineBuilder. Аннотация осуществлена с помощью программного обеспечения Annotvar.

Верификация обнаруженных вариантов нуклеотидной последовательности проводилась с помощью прямого секвенирования по Сэнгеру.

Основные результаты. У 27 из 60 пациентов (45%) обнаружены патогенные варианты в 18 генах, кодирующих субъединицы ионных каналов (*SCN1A*, *SCN3A*, *SCN8A*, *CACNA1A*, *KCNQ2*, *KCNQ3*), рецепторы и переносчики различных нейротрансмиттеров (*SLC6A1*, *GABRA1*, *STXBP1*, *SYNGAP1*), а также в генах, принимающих участие в регуляции транскрипции (*MECP2*, *TCF4*), ремоделировании хроматина (*SRCAP*), контроля аутофагии, регуляции эмбриогенеза и других молекулярно-генетических процессах (*TSEN54*, *WDR45*, *CDKL5*, *DCX*, *PIK3R2*). По структуре большинство находок представлены однонуклеотидными вариантами, также встречаются делеции экзонов в пределах одного гена и две микроделеции (13q34 и 15q11-q13). Большая часть патогенных и вероятно патогенных вариантов возникла *de novo*, в нескольких случаях варианты унаследованы от одного из родителей.

Выводы. В результате исследования разработан алгоритм диагностики генетических синдромов у детей, прежде всего выраженных как эпилепсия, позволивший выявить генетические причины для дальнейшего определения механизмов развития патологии, прогнозирования ее течения и рисков развития осложнений, а также выбора стратегии терапии пациентов.

[1] Recent advances in the molecular genetics of epilepsy / M. S. Hildebrand [et al.] // J Med Genet. — 2013. — Vol. 50, № 5. — P. 271–279.

Работа выполнена в рамках задания 12 подпрограммы «Инновационные биотехнологии» ГП «Научно-исследовательские технологии и техника» на 2021–2025 годы.



Моделирование хромосомных болезней человека: достижения и перспективы

А.А. Кашеварова¹, М.Е. Лопаткина¹, Т.В. Никитина¹, И.Н. Лебедев¹

¹ НИИ медицинской генетики, Томский НИМЦ, Россия, Томск, Наб. р. Ушайки, 10, 634050

anna.kashevarova@medgenetics.ru

Одной из основных причин хромосомных заболеваний у человека являются вариации числа копий участков ДНК (CNV). Для моногенных CNV показан феномен, когда при нарушении функции одного гена имеются множественные патологические изменения в разных органах и тканях. Принимая во внимание, что частота отдельных CNV крайне мала, а также неполную пенетрантность и вариабельную экспрессивность большинства из них, верификация патогенности новых вариантов невозможна путем простого накопления случаев, а требует моделирования их на клеточных и мышинных линиях. На протяжении 15 лет нами ведется поиск патогенных CNV у пациентов с недифференцированной умственной отсталостью. Первым объектом для изучения стали реципрокные моногенные делеция и дупликация гена *CNTN6* (Kashevarova et al., 2014). Нами впервые показана преимущественная экспрессия гена с хромосомы материнского происхождения в нейронах, дифференцированных из ИПСК пациентов с дупликацией *CNTN6* (Gridina et al., 2018). Полнотранскриптомный микроматричный анализ генной экспрессии в нейронах, дифференцированных из ИПСК пациентов с дел/дуп *CNTN6*, показал изменение экспрессии многих других генов, непосредственно не вовлеченных в хромосомную перестройку. Выявлено 8 категорий транскрипционных эффектов, соответствующих аддитивной, доминантной и U-образной моделям проявления реципрокных CNV. Показано снижение транскрипции общих дифференциально экспрессирующихся генов как в клетках с микроделецией, так и с микродупликацией *CNTN6*. Кроме того, что структурные варианты самостоятельно могут обладать патогенным эффектом, микроделеции терминальных областей хромосомы могут приводить к замыканию ее в кольцо, которое вносит свой вклад в формирование патологических признаков у пациента. Нами получены и изучены ИПСК пациентов с r(8), r(13), r(18) и r(22) (Nikitina et al., 2021). Впервые показан феномен потери r(8) и амплификация оставшегося нормального гомолога. Таким образом, моделирование эффектов CNV является необходимым этапом в доказательстве их патогенетической значимости, расшифровке молекулярных механизмов их проявления, а также поиске патогенетически значимых генов.

Работа была выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 21-65-00017, <https://rscf.ru/project/21-65-00017/>.



Коррекция мутации F508del в гене *CFTR* с использованием CRISPR/Cas9 в ИПСК и базальных клетках дыхательных путей, полученных от пациентов с муковисцидозом

Е. В. Кондратьева¹, А. Г. Демченко¹, О. В. Володина¹, А. В. Лавров¹, С. А. Смирнихина¹

¹ ФГБНУ «МГНЦ»

ekaterina.kondratyeva@gmail.com

Введение: Муковисцидоз (МВ) — самое распространенное наследственное генетическое заболевание, драматически снижающее продолжительность и качество жизни и не имеющее до сих пор этиотропного лечения. Наиболее частой причиной МВ является мутация F508del в гене *CFTR*, которую теоретически можно исправить методами редактирования гена. Мы создали несколько систем на основе CRISPR/Cas9 для редактирования данной мутации и протестировали их на линии CFTE290⁻ (клетки трахеального эпителия человека, гомозиготные по мутации F508del), на индуцированных плюрипотентных стволовых клетках человека (чиПСК) и на индуцированных базальных клетках дыхательных путей человека (чиБК).

Методы: Три линии чиПСК были созданы путем репрограммирования фибробластов кожи трех пациентов с МВ, обусловленным гомозиготной мутацией F508del. Три линии чиБК были созданы путем направленной дифференцировки указанных чиПСК. Мы создали девять систем редактирования мутации F508del, каждая из которых включала один из трех вариантов Cas9 (eSpCas9(1.1), SpCas9(HF4) и SaCas9), один из трех вариантов направляющей РНК (нРНК) и один из трех вариантов ssODN, и использовали их для трансфекции клеток CFTE290⁻ (путем липофекции), чиПСК и чиБК (путем электропорации). Затем с помощью NGS проанализировали в локусе мутации F508del уровни негомологичного соединения концов (НГСК), инделов и направленной гомологичной репарации (НГР).

Результаты: Линия CFTE290⁻ очень плохо подвергается трансфекции и редактированию ДНК; лучшая эффективность НГР составила 1,5% аллелей в трансфицированных клетках. Три линии ИПСК показали большой разброс в значениях редактирования ДНК, однако лучшая эффективность НГР для всех линий наблюдалась при использовании комбинации SpCas9(1.1) и нРНК#1 — она колебалась от 0,6% до 3,3% аллелей в трансфицированных клетках. Три линии чиБК были отредактированы с высокой эффективностью НГР от 4,3% до 27,5% аллелей в трансфицированных клетках.

Заключение: Клетки CFTE290⁻ и ИПСК являются трудными мишенями для редактирования генома, но могут быть использованы для выбора лучших редактирующих систем. чиБК, полученные из ИПСК, являются перспективной платформой для разработки генной терапии, поскольку сохраняют способность к самообновлению популяции базальных клеток и к формированию дифференцированного потомства дыхательных путей и могут быть с высокой эффективностью отредактированы в локусе мутации F508del.



Моделирование *in vitro* функциональных эффектов вариантов гена *GJB2* (коннексин 26), ассоциированных с потерей слуха

Е.А. Маслова^{1 2}, К.Е. Орищенко^{1 2}, О.Л. Посух^{1 2}

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

maslova@bionet.nsc.ru

Моделирование эффектов нарушений последовательности генов в системах *in vitro* актуально для исследований механизмов патогенеза наследственных заболеваний. Мутационные изменения гена *GJB2* (gap junction protein, beta-2, MIM 121011), который кодирует трансмембранный белок коннексин 26 (Cx26) и экспрессируется во внутреннем ухе и других органах человека, являются одной из самых частых причин потери слуха в популяциях человека и приводят к различным клиническим фенотипам: наиболее распространенная аутосомно-рецессивная глухота (DFNB1A), аутосомно-доминантная глухота (DFNA3A) и синдромальные формы, сочетающие тугоухость и различные кожные заболевания. До недавнего времени основным подходом в моделировании эффектов вариантов гена *GJB2 in vitro* являлась временная трансфекция генетических конструкций (плазмид) с мутантными *GJB2*-вариантами в доступных модельных клеточных линиях человека (HeLa, Нек293, ооциты *Xenopus* и др.), с последующим анализом функций мутантных форм белка Cx26. Однако сравнительный анализ эффектов отдельных мутантных *GJB2*-вариантов может быть затруднен в связи с потенциальной эндогенной экспрессией гена *GJB2* в используемых клеточных линиях и их генетическими различиями. В последние годы широкое развитие и применение получила технология редактирования генома CRISPR/Cas9 для моделирования потери слуха, обусловленной мутациями в различных генах, ассоциированных с глухотой, как в условиях *in vitro*, так и *in vivo*, включая попытки разработки генной терапии на основе данного метода. Нашим коллективом впервые при помощи CRISPR/Cas9 была получена линия HeLa с нокаутом по гену *GJB2* и на ее основе создана панель трансгенных клеточных линий, стабильно экспрессирующих кодирующую область гена *GJB2* с мутантными вариантами, приводящими к нарушениям в различных доменах белка Cx26, что позволяет проводить сравнительный функциональный *in vitro* анализ (внутриклеточная локализация, олигомеризация, проницаемость гемиканалов и каналов щелевых соединений, взаимодействие с другими белками) в унифицированной модельной системе.

Работа поддержана грантом МОН РФ FSUS-2024-0018 и государственным бюджетным проектом FWNR-2022-0021.



Генетическое тестирование наследственных форм болезни Паркинсона и таргетная терапия

С.Н. Пчелина¹

¹ *Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова,
Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова
Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»
sopchelina@hotmail.com*

Целью проведения генетического тестирования является уточнение диагноза, возможность проведения пренатальной диагностики и корректировка лечения. В этой связи спорным моментом до последнего времени являлась актуальность генетического тестирования наследственных форм хронических нейродегенеративных болезней, таких, как болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона (БП), для которых не существует нейропротекторных препаратов. Открытие молекулярных основ развития наследственных форм заболевания, в частности, БП, ассоциированной с мутациями в генах *GBA1* и *LRRK2* (*GBA*-БП, *LRRK2*-БП, соответственно), привели к разработке нейропротекторных таргетных молекул. Так, для *GBA*-БП, характеризующейся снижением активности фермента β -глюкоцереброзидазы (*GCase*), в качестве перспективной рассматривается терапия фармакологическими шаперонами (ФШ) *GCase*, малыми молекулами, способствующими правильной сборке мутантного фермента и его транспорту в лизосомы. Для *LRRK2*-БП, характеризующейся увеличением киназной активности, богатой лейциновыми повторами киназы 2 (*LRRK2*), в качестве нейропротекторного препарата рассматривается ряд ингибиторов активности фермента.

Нашей группой разработана система скрининга таргетных препаратов для лечения БП на пациент-специфичных клетках и предложен новый ФШ *GCase* аллостерического типа. Кроме того, показана эффективность ингибиторов *LRRK2* для восстановления активности *GCase* на пациент-специфичных клетках (первичная культура макрофагов, нейроны). В этой связи проведение генетического тестирования, особенно на предмет наследственных форм *GBA*-БП и *LRRK2*-БП, приобретает особенную актуальность для формирования групп для проведения клинических исследований.

Нами, в результате многолетнего скрининга мутаций, в генах *GBA1* (L444P, N370S) и *LRRK2* (G2019S, R1441C) при обследовании 1500 пациентов с БП выявлено 32 пациента *GBA*-БП и 27 пациентов с *LRRK2*-БП. Проведено молекулярно-генетическое обследование их семей. Таким образом, суммарная частота наследственных форм БП для пациентов, с которыми уже сегодня есть возможность быть включенными в клинические исследования, составляет 4% от всех пациентов с БП. Проведение таргетного NGS секвенирования 500 пациентов с БП с использованием NGS-панели с 50ью генами наследственных форм БП позволило впервые выявить редкую аутосомно-доминантную форму БП с мутацией в гене альфа-синуклеина (E46K *SNCA*) среди этнически русских (два ранее описанных случая были испанского происхождения), однако не позволило существенно расширить спектр форм БП с выявленной молекулярной этиологией.

Таким образом, скрининг мажорных мутаций в генах *GBA1* и *LRRK2* является наиболее целесообразным подходом для выявления наследственных форм БП и формирования групп пациентов для лечения разрабатываемыми таргетными препаратами.



Анализ ассоциаций полиморфных вариантов генов микроРНК и генов-мишеней микроРНК с развитием аллергических заболеваний верхних дыхательных путей у индивидов из Республики Башкортостан

О.Н. Савельева¹, А.С. Карунас², А.О. Власова³, Ш.З. Загидуллин⁴, Э.И. Эткина⁴, Э.К. Хуснутдинова²

¹ а) Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, г. Уфа; б) Уфимский университет науки и технологий, г. Уфа;

² а) Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, г. Уфа; б) Уфимский университет науки и технологий, г. Уфа;

в) Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа

³ а) Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, г. Уфа;

б) Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа

⁴ Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа

olyasavelie@yandex.ru

Аллергические заболевания (АЗ) представляют собой группу распространенных заболеваний многофакторной природы. МикроРНК участвуют в регуляции множества провоспалительных путей и прогрессирования АЗ в целом. Целью работы явилось исследование 28 полиморфных вариантов генов микроРНК и генов-мишеней микроРНК у больных бронхиальной астмой (БА) и аллергическим ринитом (АР) и в контрольной группе индивидов из Республики Башкортостан (РБ). В качестве материала исследования использованы образцы ДНК больных БА и АР (N=580), а также индивидов контрольной группы (N=550) русской, татарской и башкирской этнической принадлежности из РБ в возрасте от 2 до 67 лет. Отбор полиморфных вариантов генов проводился на основании анализа литературных данных, свидетельствующих о роли генов в развитии АЗ, а также информации, размещенной на онлайн-ресурсах (MiR DSNP, 3-UTR-MiRNA и др.). Проведено исследование полиморфных вариантов 6 генов, предшественников микроРНК (*MIR4432HG*, *MIR149*, *MIR3142HG*, *MIR196A2*, *MIR146A*, *MIR4435-2HG*) и 21 гена, включающего сайты связывания микроРНК с мишенью (*UBN2*, *IL10*, *SLC8A1*, *BCL2L11*, *CX3CR1*, *FAM114A1*, *HLA-G*, *TMEM30A*, *LOC389602*, *MIR4471*, *REEP3*, *LRRC32*, *LAYN*, *SLC16A7*, *RPH3A*, *TRPV1*, *GSDMA*, *PHB*, *LOC105373064*, *HLA-G*, *VDR*) у индивидов из РБ.

Анализ полиморфных вариантов генов микроРНК и генов-мишеней микроРНК показал ассоциацию аллелей rs10255774*А гена *UBN2* и rs6917*А гена *PHB* с развитием БА у русских, аллеля rs6840077*С гена *FAM114A1* с развитием БА у татар, аллелей rs11614913*Т гена *MIR196A2*, rs1512226*G (*MIR4432HG*), rs7830057*Т гена *MIR4471*, rs2240193*С гена *RPH3A* и rs12623041*Т гена *MIR4435-2HG* с развитием БА у башкир. Обнаружена ассоциация аллеля rs739837*G гена *VDR* со значительным снижением показателей жизненной емкости легких (ЖЕЛ) у детей с БА. Установлена ассоциация аллелей rs11614913*Т гена *MIR196A2* и rs2910164*С гена *MIR146A* с повышенным уровнем общего IgE у татар с БА. Выявлена ассоциация генотипа rs1063320*CC гена *HLA-G* с развитием АР и БА с сочетанным проявлением АР у русских.

Результаты данной работы свидетельствуют о вовлеченности ряда исследуемых генов микроРНК (*MIR196A2*, *MIR4432HG*, *MIR4471*, *MIR196A2*, *MIR146A*, *MIR4435-2HG*) и генов-мишеней микроРНК (*UBN2*, *RPH3A*, *HLA-G*, *VDR*, *RHB*, *FAM114A1*) в развитие АЗ дыхательных путей.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ (№ 122041400169-2), образцы ДНК взяты из Коллекции биологических материалов человека ИБГ УФИЦ РАН (№ 007-030164/2).



Уровень метилирования импринтированных генов *DLK1* и *MKRN3* у пробандов с преждевременным половым созреванием

Е.А. Саженова¹, О.Ю. Васильева¹, Е.А. Фонова¹, А.Ю. Самбялова², Е.Е. Храмова², Л.В. Рычкова²,
М.Б. Канканам Патирананге³, С.А. Васильев¹, И.Н. Лебедев¹

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук

² Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск

³ Национальный исследовательский Томский государственный университет
elena.sazhenova@medgenetics.ru

Преждевременное половое созревание (ППС, E30.1 по МКБ 10, MIM 176400, 615346) — генетически детерминированный процесс, обеспечивающий переход морфофункционального состояния организма от детства к зрелости, в основе которого лежит ранняя активация гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси. Частота заболевания оценивается в 3,7 случаев на 10 000 человек. Сегодня у детей с ППС описаны патогенетически значимые варианты в генах *KISS1*, *GPR54*, *DLK1* и *MKRN3*. Гены *DLK1* и *MKRN3* являются импринтированными с моноаллельной отцовской экспрессией, поэтому не только мутации, но и эпимутации через изменение уровня метилирования в этих генах могут приводить к нарушению их экспрессии, что также может стать причиной ППС. По последствиям такие эпимутации аналогичны мутациям в этих генах и могут приводить к экспрессии обоих родительских гомологов при снятии метилирования с репрессированного аллеля или отсутствию экспрессии обоих родительских аллелей при гиперметилировании активного аллеля. Целью настоящего исследования явилось определение уровня метилирования импринтированных генов *DLK1* и *MKRN3* у 33 девочек (возраст $8 \pm 1,6$ лет) с клинической картиной ППС и нормальным кариотипом методом таргетного массового параллельного секвенирования после обработки ДНК бисульфитом натрия. В группе контроля было проанализировано 11 девочек без данной патологии (возраст $8 \pm 2,4$ лет).

Уровень метилирования 38 CpG-динуклеотидов локуса *DLK1* в контрольной группе составил 56,2%, 21 CpG-динуклеотида локуса *MKRN3* — 58,6%. В группе 33 пациентов с ППС 5 из них (15,1%) имели повышенный уровень метилирования (76,1%, 70,3%, 78,1%, 73,0% и 72,0%) по всем анализируемым CpG-динуклеотидам гена *DLK1*, а один пробанд (3,1%) имел более низкий процент метилирования гена *MKRN3* (39,0%). Во всех представленных случаях $p < 0,02$. Ген *DLK1* (14q32) — кодирует EGF-подобный мембраносвязанный белок, участвует в сигнальном пути Notch и способствует передаче сигналов для клеточной пролиферации во время нейрогенеза. Продукт этого гена также важен для гомеостаза жировой ткани. Ген *MKRN3* (15q11.2) относится к семейству макоринов и участвует в управлении начала полового созревания. Гиперметилирование гена приводит к прекращению синтеза белка, и даже некоторое снижение экспрессии гена может приводить к недостатку белкового продукта этого гена. Гипометилирование, наоборот, приводит к избыточному продукту белка, что также может обуславливать клиническую картину ППС у пациента.

Таким образом, показано, что не только мутации, но и эпимутации в импринтированных генах *DLK1* и *MKRN3* могут стать причиной ППС.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФ № 23-25-00359.

Симпозиум 5: **Селекция и биотехнология животных**
Symposium 5: **Animal Breeding and Biotechnology**



Криорезистентность и приживляемость эмбрионов овец, полученных на разной стадии развития и криоконсервированных разными технологиями

А. М. М. Айбазов¹, М. И. Селионова²

¹ ФГБНУ Северо-Кавказский ФНАЦ

² ФГБОУ ВО «РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева», Москва

m_selin@mail.ru

В России до настоящего времени не проводилось исследований по применению множественной овуляции, получению, криоконсервации и пересадке эмбрионов овец мясных пород. Нет данных по результатам криоконсервации и витрификации овечьих эмбрионов на разной стадии развития, что явилось обоснованием проведения исследований по вызыванию полиовуляции у овец породы шароле, получению эмбрионов на разной стадии развития, их криоконсервации с применением различных методов замораживания и эмбриотранферу.

Методика. Дизайн эксперимента состоял из изучения криоустойчивости двух стадий эмбриона (ранние, 2–8 бластомерные и поздние, на стадии морула/бластоциста), двух протоколов криоконсервации (традиционное медленное замораживание и сверхбыстрая витрификация), трансфера криоэмбрионов и свежеполученных эмбрионов. Эмбрионы у овец-доноров породы шароле получали после индукции полиовуляции. Извлечение эмбрионов проводили хирургическим путем (лапаротомия) на 2 и на 6 день после осеменения. Эмбрионы замораживали двумя протоколами — стандартное медленное замораживание и сверхбыстрая витрификация.

Результаты. Установлены различия в криорезистентности эмбрионов на разных стадиях эмбрионального развития в пользу стадии морула/бластоциста. Не выявлено влияния метода криоконсервации и стадии развития эмбрионов на сохранность их морфологической структуры. Не установлено значимых различий приживляемости криоэмбрионов на разных стадиях развития, замороженных по разным технологиям, после трансфера реципиентам. Приживляемость свежеполученных эмбрионов на разных стадиях развития была достоверно выше, чем криоконсервированных на разных стадиях развития (50,3% против 30,2%, $p < 0,01$), при этом среди свежеполученных лучшая приживляемость (50,0%) наблюдалась после переноса свежеполученных морул и бластоцист. Таким образом, сбор и криоконсервация эмбрионов на стадии морулы/бластоцисты (6 день после осеменения) является более эффективной технологией. Данные о массе плода при рождении и массе ягнят в возрасте 1, 2 и 4 месяцев не выявило различий при трансплантации криоконсервированных эмбрионов ни в зависимости от стадии развития, на которой эмбрионы были собраны от доноров, ни в зависимости от метода замораживания ($p > 0,05$).



Изменчивость выборок племенных быков и коров костромской породы крупного рогатого скота по маркерам генов-кандидатов и их ассоциации с признаками молочной продуктивности

И. В. Лазебная¹, О. Е. Лазебный²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва

lazebnaya@mail.ru

В рамках многолетнего исследования изменчивости генов-кандидатов молочно-мясной продуктивности крупного рогатого скота отечественных пород в связи с селекционно-ценными признаками изучен полиморфизм отдельных SNP девяти генов (*SCD*, *DGATI*, *GH*, *CSN3*, *PRL RORC*, *GHR*, *Lep*, и *LepR*), включая четыре ранее изученные [1], описанными методами [2, 3], у костромской породы в выборках быков и коров. Проведен ассоциативный анализ признаков молочной продуктивности дочерей (более 900 животных) исследованных быков с SNP перечисленных генов.

Установленное распределение частот генотипов в выборках соответствует равновесному распределению Харди-Вайнберга. Выборки статистически значимо различаются (*G*-тест, $P < 0,01$) по распределению частот аллелей исследованных локусов генов *CSN3*, *DGATI* и *LepR*. Значения *He* варьируют от 0,06 для локуса гена *Lep* у коров и 0,09 для локуса гена *GH* у быков, до 0,47 и 0,50 для локуса гена *CSN3*, соответственно. При сходстве генетической структуры выборок выявлена большая изменчивость выборки быков методом кластерного анализа (STRUCTURE 2.3) и главных координат (GenAlEx v.6.503). На первые две главные координаты приходится 18% и 17% изменчивости, соответственно. Дисперсионный анализ (Statistica 10.0.) зависимости признаков молочной продуктивности дочерей от генотипов быков по SNP исследованных генов установил влияние SNP гена *SCD* на содержание (%) и выход (кг) жира, удой (кг) и SNP гена *CSN3* на содержание (%) жира.

[1] Lazebnaya, I. V., Perchun, A. V. & Lazebny, O. E. Biol Bull Rev 12 (Suppl 1), S34–S45 (2022). <https://doi.org/10.1134/S2079086422070076>.

[2] Avilés, C., Polvillo, O., Peña, F., Juárez, M., Martínez, A. L., & Molina, A. (2013). J Anim Sci, 91(10), 4571–4577.

[3] Lazebnaya I. V., Perchun A. V., Lhasaranov B. B., Lazebny O. E., Stolpovskiy Yu. A. Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(6):734–741. <https://doi.org/10.18699/VJ18.417>.

Исследование выполнено при финансовой поддержке государственных программ фундаментальных исследований № 122022600162–0 и № 0088–2024–0011.



Активность тиреоидной системы, липидные профили и репродуктивная способность ассоциированы с полиморфизмом гена *FASN* у коров черно-петрой породы

И.Ю. Лебедева¹, М.В. Позовникова², О.С. Митяшова¹

¹ Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста, Подольск

² Всероссийский НИИ генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал ФГБНУ Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста, Санкт-Петербург – Пушкин

ir5ledv@mail.ru

На завершающей стадии стельности и в период ранней лактации у молочных коров значительно возрастают потребности в энергии и питательных веществах, дефицит которых отчасти компенсируется за счет мобилизации жировых депо. Это приводит к повышению содержания в крови свободных жирных кислот и их частичному окислению до ацетил-КоА, а избыточный уровень последнего связан с образованием в организме кетоновых тел, в высокой концентрации оказывающих негативное влияние на репродуктивную функцию коров. Синтаза жирных кислот (*FASN*) способствует утилизации избытка ацетил-КоА, снижая риск возникновения кетоза. Тиреоидные гормоны, ключевые регуляторы липидного обмена, повышают экспрессию гена *FASN* благодаря наличию в его последовательности соответствующих элементов ответа (Duran-Montgé et al., *Animal* 2009; 3(11):1580). Цель представленной работы состояла в изучении ассоциаций генотипов коров с известным однонуклеотидным полиморфизмом в гене *FASN* с предродовыми и послеродовыми тиреоидными и липидными профилями и репродуктивной способностью животных. В исследовании были использованы коровы черно-петрой породы ($n = 66$), у которых с 6 недели до отела и до 13 недели после отела брали кровь для анализа концентрации гормонов методом ИФА. Период восстановления лютеальной активности яичников оценивали на основании УЗИ и содержания прогестерона в крови. Генотипирование животных проводили методом ПЦР-ПДРФ. У всех коров с генотипом AG период восстановления функции яичников составлял не более 13 недель, тогда как среди особей с генотипом GG доля таких коров не превышала 64,0% ($p < 0,01$). Кроме того, частота встречаемости особей с продолжительностью сервис-периода менее 120 дней в группе AG достигала 71,4%, а в группе GG была только 30,4% ($p < 0,05$). За 6 недель до отела концентрация общего тироксина и общего трийодтиронина была в 1,4 раза ниже ($p < 0,001 - 0,05$) в крови коров с генотипом AG, чем с генотипом GG, но в дальнейшем уровни тиреоидных гормонов не различались. Напротив, липидные профили были одинаковыми до отела у животных с разными полиморфными вариантами гена *FASN*. В то же время через 7 и 13 недель лактации содержание общего холестерина и фосфолипидов в крови коров с генотипом AG было в 1,2–1,3 раза выше ($p < 0,001 - 0,05$) по сравнению с коровами с генотипом GG. Концентрация триглицеридов через 1 и 13 недель после отела также была в 1,1–1,2 раза выше ($p < 0,05$) у носителей генотипа AG, чем генотипа GG. Полученные данные предполагают, что снижение тиреоидных уровней за 6 недель до отела может играть компенсаторную роль в нивелировании липидных профилей, тогда как повышение последних после отела способствует поддержанию репродуктивной функции у коров с генотипом AG.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России (тема № FGGN-2024-0014).



Тиреоидный профиль и стероидогенная активность яичников после искусственного осеменения коров с разными полиморфными вариантами гена *DIO1*

О.С. Митяшова¹, О.В. Костюнина¹, О.В. Алейникова¹, И.Ю. Лебедева¹

¹ Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста, Подольск
mityashova_o@mail.ru

Полиморфизм в позиции 13149 гена *DIO1*, кодирующего дейодиназу 1-го типа, отвечающую за превращение тироксина в трийодтиронин (Т3) и реверсивный Т3, ассоциирован с репродуктивной способностью молочных коров, что может быть обусловлено особенностью тиреоидных профилей в предродовой и ранний послеродовой периоды (Kostyunina et al., 2023). Тем не менее остается неясным, связан ли полиморфизм гена *DIO1* с сохранением беременности и каков механизм такой связи. Поэтому нами было исследовано содержание тиреоидных и половых стероидных гормонов в сыворотке крови после искусственного осеменения коров черно-пестрой породы с полиморфными вариантами гена *DIO1*. Генотипирование образцов ДНК животных выполняли методом количественной ПЦР. Синхронизацию половой охоты коров проводили по схеме ovsynch ($n = 30$). В день осеменения и после осеменения (7, 14, 21 и 33 день) в сыворотке крови коров методом ИФА определяли содержание общего Т3 и его реверсивной формы (rТ3), а также прогестерона (P4) и эстрадиола-17 β (E2). Наличие беременности диагностировали с помощью УЗИ-исследования животных. У особей с генотипом CC результативность осеменения достигала 84,6%, тогда как у особей с генотипами CG и GG она составляла 40,0% ($p < 0,05$) и 42,9%, соответственно. Динамика изменения уровней Т3 и rТ3 в течение месяца после осеменения различалась у коров с разными полиморфными вариантами гена *DIO1*. При этом в день осеменения содержание Т3 в крови особей с генотипом CC было в 1,4 раза ниже ($p < 0,05$), чем у особей с генотипом CG. Кроме того, на 7 день после осеменения концентрация rТ3 у коров с генотипом GG была в 1,3 раза выше ($p < 0,05$), чем у коров с генотипами CC и CG. Не обнаружено значительных различий в сывороточном содержании P4 между сравниваемыми группами. Концентрация E2 в крови коров с генотипом CG в день искусственного осеменения, а также на 14 и 21 день, была в 1,5–1,9 раза выше ($p < 0,001–0,05$), чем у коров с генотипом CC или GG. Содержание Т3 положительно коррелировало с содержанием E2 в крови у всех коров независимо от генотипа ($p < 0,001–0,05$). Концентрация rТ3 была ассоциирована с концентрацией E2 в случае генотипов CC и CG ($p < 0,001–0,01$) и с концентрацией P4 в случае генотипа CG ($p < 0,05$). Таким образом, полиморфизм в позиции 13149 гена *DIO1* влияет на результативность осеменения коров черно-пестрой породы вследствие изменения тиреоидных профилей, которые позитивно связаны со стероидогенной активностью яичников.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России (тема № FGGN-2024–0014).



Оценка биоразнообразия аборигенного крупного рогатого скота, разводимого в Республике Беларусь

М.Е. Михайлова¹, Т.В. Долматович¹

¹ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, г. Минск

m.mikhailova@igc.by

Красный белорусский скот является ценной отечественной популяцией, отличающейся приспособленностью, повышенным содержанием в молоке белка и жира. Проведена оценка биоразнообразия популяции аборигенного красного белорусского скота (КБС) по полиморфным вариантам генов митохондриального генома: COI, COII, COIII, CytB и 12 SSR-локусам. Картирование секвенированных фрагментов на референсный геном *Bos taurus* V00654 позволило выявить 15 полиморфных нуклеотидных сайтов. В гене, кодирующем цитохром с-оксидазу 1, выявлены SNP замены: 5917A>G, 6550A>G, 6637A>G, в COII — 7668A>G, в гене, кодирующем АТФ синтазу (АТР6) — 8898G>A, в COIII — 9068G>A, 9682G>C. В гене, кодирующем NADH-дегидрогеназу (ND3), идентифицирована SNP замена — 9972C>T, а в гене, кодирующем цитохром b: 14732G>A, 14894A>G, 15074T>C, 15102C>T, 15206G>A, 15275T>C, 15656G>A.

Транзиции составили основную часть наблюдаемых замен — 14, превышая количество трансверсий, а количество пиримидиновых А ↔ G транзиций преобладало над пуриновыми С ↔ Т. Филогенетическое дерево, построенное методом Neighbor-Joining по данным нуклеотидных последовательностей гена, кодирующего цитохром b, показало, что образцы белорусского красного скота распределились по 3 кластерам. Наиболее близкими к референсной последовательности и с наименьшим числом замен оказались гаплотипы, отнесенные к группе I, III и IV. Наиболее отдаленными были гаплотипы II и V. Молекулярно-генетический анализ выборки КБС по 12 SSR-локусам позволил идентифицировать 82 аллеля (в среднем 6,8 аллелей на локус), в том числе 30 редких аллелей (с частотой менее 5%), что составляет 36,6% от общего числа выявленных аллелей. При анализе совокупности данных установлено, что генетическое разнообразие КБС довольно низкое. Так, среднее значение индекса фиксации $F = -0,036 \pm 0,036$ свидетельствует о низком генетическом разнообразии популяции, а также о низком уровне инбридинга. Кластерная дифференциация особей проанализированной выборки КБС, выявленная методом ближайших соседей Neighbour-Joining, свидетельствует о внутренней гетерогенности исследуемой выборки популяции БКС и разделяет её на три субпопуляции. Предполагаем, что выделение генетически обособленных групп из общей популяции весьма условно, так как проанализирована только незначительная её часть.

Проект выполнен при финансовой поддержке БРФФИ: № Б23РНФ-060.



Изучение полиморфизмов, влияющих на фертильность крупного рогатого скота белорусской селекции

Е.Л. Романишко¹, М.Е. Михайлова¹, А.И. Киреева¹

¹ Институт генетики и цитологии

lenaramanishko@mail.ru

Бесплодие крупного рогатого скота (КРС) является основной причиной выбраковки коров и одним из факторов, приводящий к экономическим потерям в скотоводстве. Использование молекулярно-генетических методов диагностики животных играет значительную роль в оценке фертильности коров молочного направления. Выявление полиморфизмов, ассоциированных с гаплотипами фертильности и генов активаторов транскрипции (STAT), влияющих на сохранность плода в период как эмбрионального, так и постэмбрионального развития в геноме белорусского КРС, является важной задачей.

Анализ генетической структуры голштинской породы КРС (n = 6460 гол.), проведенный с 2008 по 2024 год, показал, что частота встречаемости животных-носителей мутантных аллелей в среднем на 2024 год составляет: ВУС — 3.03%, НН1С — 2.48%, НН3С — 3.13%, НН4С — 0,45%, НН5С — 2.45%, НСД — 1,3–2.26%, СВС — 2.36%, ВЛС — 0.60%, ДРС — 0%, ХИС — 0.36, ВС — 0%. В 2024 году была расширена диагностическая панель гаплотипов фертильности НН6, НН7, НН2 и ННМ, однако в исследованной выборке не было выявлено животных-носителей дефектов.

Значительный интерес представляет исследование полиморфизмов генов-активаторов транскрипции (STAT) для повышения фертильности и продуктивности КРС белорусской селекции. Семейство STAT содержит 7 структурно и функционально родственных белков, которые играют важную роль в эмбриональном развитии и рождаемости у млекопитающих. Согласно литературным данным (Н. Khatib, 2009), установлена взаимосвязь некоторых полиморфизмов (SNP) в генах STAT с оплодотворением и ранней эмбриональной выживаемостью КРС. А именно: полиморфизмы rs43705173 гена *STAT1*, rs110942700 и rs134279188 гена *STAT3* ассоциированы с низкой выживаемостью эмбрионов. Полиморфизм rs208753173 гена *STAT5* ассоциирован (Н. Khatib, 2008) с высокой долей неоплодотворенных зародышей и их пониженной выживаемостью.

Нами исследован полиморфизм rs43705173 гена *STAT1*, частота встречаемости животных с генотипом АG — 28,57%, АА — 71,43%. Гомозиготных животных GG с пониженной выживаемостью эмбрионов выявлено не было. Также исследование полиморфизма rs110942700 гена *STAT3* показало следующую частоту: АС — 14,29%, GG — 85,71%. Гомо и гетерозиготные животные по А аллелю, согласно литературным данным, имеют более низкую выживаемость эмбрионов.

Таким образом, изучение гаплотипов фертильности и STAT генов способствует улучшению показателей рождаемости и сохранности молочного голштинского скота белорусской селекции.



Анализ ассоциаций однонуклеотидных замен с компонентами молока коз

М.И. Селионова¹, В.И. Трухачев¹, А.А. Белоус²

¹ ФГБОУ ВО «РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева», Москва

² ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, Подольск

selionova@rgau-msha.ru

Молочное козоводство характеризуется динамичным развитием, обусловленным устойчивым спросом на продукцию из козьего молока [1]. Выявление генов-кандидатов, ассоциированных с наиболее экономически важными признаками коз, позволяет ускорить селекционный процесс в козоводстве [2, 3]. Цель работы — идентификация генов-кандидатов, связанных с молочной продуктивностью карачаевских коз на основе полногеномного ассоциативного анализа. Методика. Генотипирование выполняли с использованием панели GoatSNP53K Beadchip и программы BeadStudio, контроль качества, фильтрацию данных, выявление ассоциаций для каждого SNP (Single Nucleotide Polymorphism) с компонентами молока проводили множественным линейным регрессионным анализом с помощью программного пакета PLINK 1.90, визуализацию данных — в пакете qqman с использованием языка R. Анализ компонентов молока коз проводился на базе ОНИС БиоТехЖ с использованием автоматического анализатора CombiFoss 7 DC («FOSS», Дания). Результаты. Выявлены полногеномные и суггестивные SNP, при этом наибольшее число SNP было расположено на хромосомах (Chr) 2, 8, 16 и 25. На Chr 8 один SNP (snp997-scaffold1026-378556) был общим для двух признаков (массовая доля белка (МДБ) и содержание лактозы (Л)), два SNP (snp43681-scaffold585-2255525 и snp33285-scaffold391-913110) — для двух признаков (МДБ и Л, массовая доля жира (МДЖ) и насыщенные жирные кислоты (ЖК)); на Chr 2 три SNP (snp18646-scaffold1882-539299, snp8325-scaffold130-2860751 и snp8326-scaffold130-2909971) — для четырех признаков (сухое вещество и насыщенные ЖК, МДБ и содержание казеина); на Chr 25 один SNP (snp16908-scaffold1766-616140) — для семи признаков (МДЖ, длинно-, средне- и короткоцепочечные, пальмитиновая, олеиновая ЖК, трансизомеры ЖК). Три полиморфизма — snp18646-scaffold1882-539299, snp10469-scaffold1373-2167084 и snp33285-scaffold391-913110 на Chr 2 и 8 соответственно — пяти (насыщенные, средне- и короткоцепочечные, миристиновая и пальмитиновая ЖК); snp3754-scaffold112-3973504 на Chr 16 — двух признаков (олеиновая и длиноцепочечные ЖК). Структурная аннотация геномных регионов, покрывающих окно $\pm 0,20$ Mb, выявила 23 гена с описанными функциями в терминах геномной онтологии. Гены ADRA1A, DPYSL2, NKX3-1, NKX2-6, TNN, ABCA3, ODAD2, CASP7, HABP2, PHACTR1 и MFHAS1 регулируют процессы развития физиологических особенностей организма, FMO2, ECI1, FMO1, BAG2, PGP, AMDHD2 и PDZD8 — метаболизма, METTL8, STC1, PDPK1 — клеточных функций, AGTPBP1 — нервной системы, NRAP — развитием сосудов; INSIG1, CEMIP2, BAAT, PLPPR1, LACTB, FMO1, FMO2, ECI1, PGP и ABCA3 — липидного обмена и развития жировой ткани.

1. *Ерохин, А. И.* Динамика поголовья коз и производства козьего молока и мяса в мире и в России / А. И. Ерохин, Е. А. Карасев, С. А. Ерохин // Овцы, козы, шерстяное дело. — 2020. — № 4. — С. 22–25. DOI:10.26897/2074-0840-2020-4-22-25.
2. *Saleh, A. A.* Candidate genes and signature of selection associated with different biological aspects and general characteristics of goat / A. A. Saleh, A. M. A. Rashad, N. A. M. Hassanine, et al. // Emerging Animal Species. — 2022. — No. 5. — Article 100013. DOI:10.1016/j.eas.2022.100013.
3. *Трухачев, В. И.* Характеристика корреляционных связей между компонентами молока коз молочного и комбинированного направлений продуктивности / В. И. Трухачев, М. И. Селионова, А. М. М. Айбазов и др. // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. — 2022. — № 5. — С. 108–119. DOI:10.26897/0021-342X-2022-5-108-119.



Идентификация полиморфизма в генах, ассоциированных с биомаркерами компонентного состава молока коров, с использованием методов геномного анализа и инфракрасной спектроскопии

А.А. Сермягин¹, Н.А. Зиновьева¹

¹ ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, Подольск, Московская область

alex_sermyagin85@mail.ru

Оценка генотипа крупного рогатого скота молочного направления продуктивности является одной из основных задач современной генетики количественных признаков. Анализ молекулярных механизмов синтеза жирнокислотной, белковой фракций и остаточных метаболитов обмена веществ в молоке позволяет выявлять закономерности формирования и реализации продуктивных качеств особей, вести поиск путей прогнозирования ряда важных селекционных признаков (сыропригодность молока, физиологический статус животного и др.). Цель исследований состояла в идентификации полиморфизмов в генах, ответственных за регуляцию синтеза и изменчивость компонентного состава молока коров с использованием GWAS анализа для биомаркеров жирных кислот и казеина молока, обмена веществ, полученных с помощью инфракрасной спектроскопии. В работе использовались генотипы 279 гол. особей, полученные на основе биочипов BovineSNP50_v3_A1 (Illumina). Анализы молока проводились на инфракрасном анализаторе MilkoScan 7 (FOSS) в период 2020–2023 гг., число которых составило 10044 образцов. Установлено, что наибольшее число генов картировали локусы количественных признаков для следов ацетона и концентрации мочевины (*FRS2*, *CTNNA2*, *EIF2AK3*, *HPCAL1*, *KCNMA1* — связаны с изменчивостью содержания коллагена в мышцах, нежностью мяса, репродуктивными качествами, продолжительностью продуктивной жизни, процентом белка в молоке); биомаркеров содержания лактозы и концентрации мочевины (*PDE11A*, *GALNT13*, *NPSR1*, *NRCAM*, *SEPT7*, *DCK*, *ABLM3*, *TSC1*, *KCNQ3*, *WVWX*, *CFAP43*, *FAS*, *TCF7L2*, *BMPI1A*, *GALNT2*, *GPLD1* и *TENM4* — устойчивость к ряду заболеваний, экстерьерные параметры, фертильность). Данные показатели в значительной мере отвечают за функциональные качества животных, что и подтвердилось в результате анализа. Стоит выделить «главные» гены продуктивности. Так полиморфизм в гене *DGAT1* (включая гены *CYHR1*, *VPS28*, *ZC3H3* на BTA14) был ассоциирован со следующими биомаркерами молока: кислотность, короткоцепочечные ЖК (КЦЖК), процент жира, насыщенные ЖК (НЖК), С14:0, С16:0, сухое вещество, среднецепочечные ЖК (СЦЖК), что обуславливало их сопряженность с QTL, отвечающими за синтез процента жира и белка молока, выход молочного жира и белка, ряда ценных жирных кислот, морфологическими качествами вымени коров. По гену комплекса белковых частиц 9 — TRAPPC9 (включая гены *GRIN2B* и *DNAJC21* на BTA14) также была установлена сопряженность с уровнем изменчивости биомаркеров ряда жирных кислот — КЦЖК, МДЖ, НЖК, С14:0, С16:0, СЦЖК. Было обнаружено наибольшее число QTL для процента молочного жира и белка, содержания олеиновой ЖК и витамина В-12 в молоке, индексом стельности и мертворождениями, крепостью конечностей и костяка. Таким образом, полученные результаты указывают на детерминацию изменчивости состава молока коров рядом полиморфизмов в генах, входящих в QTL, значимо сопряженных с селекционно значимыми признаками у молочного скота.

Исследования проведены при финансовой поддержке проекта РНФ № 21-76-20046.



Длина теломер как перспективный маркер для селекции крупного рогатого скота на продолжительность хозяйственного использования

Н.С. Юдин¹, А.В. Игошин¹, Г.А. Ромашов¹, Д.М. Ларкин¹

¹ ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10

yudin1962@mail.ru

Улучшение здоровья животных и продолжительности их хозяйственного использования являются приоритетами при селекции крупного рогатого скота (КРС). Однако эффективность селекции по этим признакам ограничена их низкой наследуемостью и трудностями измерения фенотипов. Длина теломер лейкоцитов (ДТЛ) может быть альтернативным маркером для селекции на признаки здоровья и продуктивного долголетия, поскольку известно, что ДТЛ связана со здоровьем, старением и стрессом у людей и животных, а также с продолжительностью хозяйственного использования у КРС. Однако до сих пор неясно, в какой степени ДТЛ у КРС определяется генетикой и факторами окружающей среды. Целью работы было выявление возможной ассоциации породы, климата и ДТЛ у КРС.

ДТЛ была оценена с помощью программы TelSeq по данным полногеномного секвенирования 239 животных, относившихся к 17 породам КРС. Животные калмыцкой породы были представлены выборками из Ростовской области и Республики Якутия.

ПГАА с ковариатами для двух групп пород (турано-монгольского и европейского происхождения) выявил 42 однонуклеотидных полиморфизма (ОНП), из них 8 были локализованы в 7 генах (PTPRD, EXOC6B, NSL1, RPS6KC1, AGBL1, GPC1, ENSBTAG00000052188). ПГАА с ковариатами для отдельных пород выявил 63 ОНП, из них 13 были локализованы в 5 генах (PTPRD, EXOC6B, RPS6KC1, NELL1, ENSBTAG00000040318). Редкие аллели ОНП ВТА8:36496551 и ВТА8:36516223 в топовом гене PTPRD были ассоциированы со снижением ДТЛ независимо от возраста и породы животных. Ранее этот ген был ассоциирован с ДТЛ у голштинского скота.

С учетом возраста и пола, порода животных достоверно коррелировала с ДТЛ в исследованной выборке. После поправки на возраст, ДТЛ у коров калмыцкой породы из Ростовской области оказалась существенно ниже, чем у коров из Республики Якутия. Результаты анализа популяционной структуры показали отсутствие существенных различий между этими двумя популяциями. По-видимому, различия ДТЛ между двумя выборками коров калмыцкой породы связаны именно с влиянием местного климата.

Таким образом, выявленные нами ОНП в гене PTPRD могут быть использованы для маркер-ориентированной селекции на признаки, связанные с увеличением длины теломер.

Исследование выполнено за счет гранта РФ № 22-26-00143.

Симпозиум 6: Пост-трансляционные процессы
Symposium 6: Post-translational Processes



Уникальные димеризующиеся N-концевые домены типа «C2H2-цинковые пальцы» *D. melanogaster*

К.И. Балагуров¹, А.Н. Бончук¹, П.Г. Георгиев¹

¹ ИБГ РАН Москва

kostya.chamomilla@gmail.com

Контроль за реализацией генетической информации осуществляют специальные регуляторные белки — транскрипционные факторы, координирующие уровень экспрессии генов, а нарушения в их работе ассоциированы с развитием онкологических и других серьезных заболеваний. Одним из механизмов регуляции экспрессии генов является установление и поддержание дистанционных взаимодействий архитектурными белками хроматина, которые содержат кластеры ДНК-связывающих доменов типа «C2H2-цинковые пальцы». Архитектурные белки часто существуют в виде гомодимеров, а роль димеризующего домена, как правило, выполняют N-концевые эффекторные домены. Примерами таких эффекторных доменов являются VTB-домены, а также ZAD-домены членистоногих и SCAN-домены млекопитающих. Предполагается, что в качестве димеризующих эффекторных доменов могут выступать домены типа «C2H2-цинковые пальцы». Ранее коллективом авторов была проведена поисковая работа белков *D. melanogaster*, доменная организация которых схожа с типичной организацией архитектурных белков, но содержащих на N-конце одиночный C2H2-домен в качестве потенциального эффекторного домена. По результатам работы было отобрано более 25 белков *D. melanogaster* и получены генетические конструкции их N-концевых C2H2-доменов. С использованием методов химической сшивки глутаральдегидом, дрожжевой двугибридной системы (ДДС), аналитической гель-фильтрации и *in vitro* pull-down assay нам удалось подтвердить димеризующую активность для восьми изучаемых доменов — CG1602, CG1603, CG1605, CG2129, CG18262, CG10959, CG8643, CG8944. Гены CG8643 и CG8944 в геноме *D. melanogaster* расположены обособленно, а остальные гены, кодирующие найденные белки, образуют два генных кластера и, вероятно, являются паралогами. Методом ДДС была исследована способность N-концевых C2H2-доменов к гетеродимеризации. Было показано, что гетеродимеризация возможна преимущественно внутри кластеров, и мы обнаружили лишь несколько взаимодействий между разными кластерами. При помощи алгоритма AlphaFold2 нами были получены модели высокой степени достоверности для всех исследуемых C2H2-цинковых пальцев. Интерфейс взаимодействия между субъединицами образован путем формирования антипараллельного β -листа из дополнительных N-концевых β -тяжей. Во взаимодействие также вовлечены β -тяжи коровой укладки C2H2-цинковых пальцев, что в итоге приводит к образованию шести-тяжевого антипараллельного β -листа. Для определения трехмерной структуры N-концевого C2H2-домена белка cg18262 методом ЯМР-спектроскопии, были получены его чистые препараты, меченые ¹⁵N и ¹³C-изотопами, а также немеченые образцы. С использованием метода Talos-N было показано, что элементы вторичной структуры изучаемого домена соответствуют модели AlphaFold2. В ближайшее время с использованием полученных ¹H, ¹H-¹⁵N, ¹⁵N-¹³C-спектров планируется определить первую пространственную структуру гомодимеризующегося домена типа «C2H2-цинковые пальцы». Таким образом, имеющиеся данные описывают потенциально новое семейство архитектурных белков *D. melanogaster*, способных к гомо- и гетеродимеризации за счет N-концевого домена типа «C2H2-цинковые пальцы».



Порины OmpC и OmpF *Salmonella enterica* и *Escherichia coli* обладают амилоидными свойствами

М.В. Белоусов^{1 2}, А.О. Косолапова^{1 2}, Х. Фаюд^{1 2}, М.И. Сулацкий³, А.И. Сулацкая³,
М.Н. Романенко^{1 2}, А.Г. Бобылев⁴, К.С. Антоненц^{1 2}, А.А. Нижников^{1 2}

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

² Биологический факультет, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

³ Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино, Россия

belousovmix@gmail.com

Белки наружной мембраны (Omp) грамотрицательных бактерий представляют собой порины, участвующие в широком спектре клеточных процессов, связанных с вирулентностью и патогенезом, включая транспорт, адгезию, проникновение и колонизацию тканей хозяина. Большинство Omp имеют специфическую пространственную структуру, называемую «β-бочонком», которая обеспечивает их структурную целостность внутри липидного бислоя мембраны. Исследования показывают, что Omp из нескольких видов бактерий способны принимать амилоидное состояние, альтернативное их структуре «β-бочонка». Амилоиды представляют собой белковые фибриллы со специфической пространственной структурой, называемой «кросс-β», которая придает им необычайную устойчивость к различным физико-химическим воздействиям. Известно, что различные бактериальные амилоиды участвуют во взаимодействиях хозяин-патоген и хозяин-симбионт и способствуют колонизации тканей хозяина. Такая способность Omp принимать амилоидное состояние может представлять собой важный механизм бактериальной вирулентности. На данный момент мы исследовали амилоидные свойства поринов OmpC и OmpF двух видов семейства *Enterobacteriaceae*: *Escherichia coli* и *Salmonella enterica*. Мы продемонстрировали, что эти порины образуют токсичные фибриллярные агрегаты *in vitro*. Эти агрегаты проявляют двойное лучепреломление при связывании красителя Конго красного и демонстрируют характерные сигналы при дифракции рентгеновских лучей. Таким образом, мы более детально подтвердили амилоидные свойства OmpC *E. coli* и показали амилоидные свойства трех новых белков: OmpC *S. enterica* и OmpF *E. coli* и *S. enterica in vitro*. Для всех этих белков также были продемонстрированы амилоидные свойства по целому ряду параметров: устойчивость к детергентам и протеазам, термостабильность, взаимодействие со специфическими амилоидными красителями при поляризационной микроскопии, характерные изображения при просвечивающей электронной микроскопии, а также исследования в экстраклеточной системе агрегации (C-DAG) на основе *E. coli* (Belousov et al., IJMS, 2023). Эти данные важны в контексте понимания структурного дуализма Omp и его связи с патогенезом.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 24-26-00124).



Стресс, рак и инфекционные заболевания — пусковые механизмы спорадических амилоидозов

А.П. Галкин¹

¹ Санкт-Петербургский Филиал ИОГен РАН

² Санкт-Петербургский государственный университет

apgalkin@mail.ru

Амилоиды представляют особый тип белковых фибрилл, которые формируются за счёт образования упорядоченных межмолекулярных водородных связей, так называемых кросс-бета структур. Зачастую формирование амилоидных фибрилл вызывает цитотоксический эффект и приводит к развитию целого ряда летальных заболеваний. В частности, к ним относятся такие широко распространённые и социально-значимые заболевания, как болезни Альцгеймера и Паркинсона. Лишь менее 5% случаев амилоидозов связано с мутациями, способствующими агрегации белка. В большинстве случаев цитотоксические амилоидные фибриллы формируются спорадически, и этот процесс не связан с мутациями. Проведённый нами анализ показал, что различные виды стресса вызывают увеличение продукции или модификации белков, что способствует их амилоидной агрегации. Так, на фоне хронических инфекционных заболеваний уровень продукции белка SAA увеличивается в тысячу раз, при этом в плазме крови формируются цитотоксические агрегаты SAA, которые поражают самые разные органы и ткани. Резкое увеличение уровня продукции SAA отмечается при тяжёлом течении COVID-19. Системные осложнения после коронавирусной инфекции могут быть связаны с поражением различных органов амилоидными фибриллами белка SAA. Эта гипотеза уже получила экспериментальные подтверждения.

Канцерогенез также способствует изменению уровня продукции белков, что приводит к формированию цитотоксических амилоидов. Например, множественная миелома сопровождается неконтролируемыми делениями В лимфоцитов, продуцирующих тяжёлые и лёгкие цепи иммуноглобулинов. Это, в свою очередь, способствует формированию цитотоксических агрегатов цепей иммуноглобулинов и развитию системного амилоидоза.

Факторами риска болезни Альцгеймера (БА) являются нарушение кровообращения головного мозга, окислительный стресс и метаболические синдромы. Уровень продукции связанного с этим заболеванием амилоидного пептида бета (Аβ) у больных и здоровых людей не различается. Есть основания полагать, что клеточный стресс-ответ способствует модификации и амилоидной агрегации этого пептида. Спорадическая форма БА отмечается лишь у пожилых людей, и частота этого неизлечимого заболевания с возрастом увеличивается экспоненциально. Вероятно, существует нейрогормональная регуляция, которая препятствует формированию патологических олигомеров и агрегатов Аβ в мозге молодых людей. Поиск нейропротекторных пептидных гормонов представляется наиболее перспективной стратегией лечения БА.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 24-14-00233.



Роль неструктурированных NM-доменов дрожжевого белка Sup35 в его фазовой сепарации

Н.А. Горшенева¹, А.В. Гризель², А.Е. Гаврилов¹, К.Ю. Куличихин¹, А.А. Рубель¹, Ю.О. Чернов²

¹ Научная лаборатория биологии амилоидов, СПбГУ, Санкт-Петербург

² School of Biological Sciences, Georgia Institute of Technology, Atlanta, GA, USA

natalia.gorsheneva@mail.ru

Одним из принципов пространственно-временной регуляции биохимических реакций в клетке является образование компартментов. Кроме мембранных компартментов (ядро, митохондрии, ЭПР и др.), существуют и немембранные органеллы (биомолекулярные конденсаты). Более плотные, чем цитоплазма/нуклеоплазма, они образуются в результате разделения фаз и содержат конденсированные белки и нуклеиновые кислоты. Биоконденсаты образуются при биогенезе рибосом, регуляции транскрипции, ответе на стрессовые воздействия и т.д. Нарушение их формирования может приводить к нейродегенеративным заболеваниям.

В формировании биоконденсатов часто задействованы белки, содержащие неструктурированные участки. Примером такого белка является Sup35, фактор терминации трансляции eRF3 у дрожжей. Предполагается, что именно неструктурированные NM-домены Sup35 способствуют его конденсации при стрессовых воздействиях, приводящих к снижению цитоплазматического pH [1].

Целью данной работы было изучить влияние другого типа стресса (гиперосмотического шока) на образование биоконденсатов Sup35NM и выявить роль неструктурированных доменов в этом процессе, а также проверить, является ли механизм конденсации Sup35 pH-зависимым. Для этого фрагменты Sup35N и Sup35NM, а также их варианты, содержащие делеции различных участков N-домена Sup35, были слиты с флуорофором и свехпродуцированы в клетках дрожжей. Затем исследовали образование и свойства конденсатов данных белков при стрессовых воздействиях (гиперосмотический шок или закисление внутриклеточной среды). Параллельно измеряли цитоплазматический pH, используя pH-чувствительный флуоресцентный белок sfpHluoGin.

В результате было показано, что гиперосмотический шок, но не закисление цитоплазмы способствует образованию жидких конденсатов Sup35N/Sup35NM. N-домен Sup35 необходим и достаточен для конденсации, а M-домен способствует их растворению.

1. Franzmann, T. M., et al. (2018). Phase separation of a yeast prion protein promotes cellular fitness. *Science (New York, N. Y.)*, 359(6371), eaao5654, <https://doi.org/10.1126/science.aao5654>

Исследование было выполнено при поддержке Санкт-Петербургского государственного университета (проект № 95444727).



Молекулярно-генетические характеристики последствий нарушения терминации трансляции

Г.А. Журавлева¹

¹ Кафедра генетики и биотехнологии и лаборатория биологии амилоидов
Санкт-Петербургского государственного университета
zhouravleva@rambler.ru

Около трети наследственных болезней человека обусловлены присутствием стоп-кодонов в кодирующих последовательностях различных генов. Вместе с тем хорошо известно, что существует естественный механизм, или нонсенс-супрессия, предотвращающий последствия возникновения преждевременных стоп-кодонов за счет их считывания как значащих. Процесс терминации трансляции в клетках эукариот обеспечивается совместной работой факторов терминации трансляции eRF1 и eRF3 при участии ряда других белков. Уникальной особенностью дрожжевого фактора терминации трансляции eRF3/Sup35 является его способность к агрегации, что приводит к образованию приона [PSI⁺] и нарушению терминации трансляции. Таким образом, появление приона [PSI⁺] в клетке в некоторой степени моделирует ситуацию с уменьшенным содержанием eRF3. Гены *SUP45* и *SUP35*, кодирующие белки eRF1 и eRF3 в клетках дрожжей-сахаромицетов, являются жизненно важными, поэтому нонсенс-мутации, приводящие к появлению преждевременного стоп-кодона в кодирующей последовательности этих генов, должны вызывать гибель клеток. Известно, что даже небольшие делеции С-терминальных доменов, как eRF1, так и eRF3, приводят к нарушению жизнеспособности. Ранее были получены нонсенс-мутанты по генам *SUP45* и *SUP35* и показано, что в мутантных клетках присутствует небольшое количество соответствующего фактора терминации трансляции, что позволяет сохранять жизнеспособность. Таким образом, у всех изолированных мутантов происходит трансляция нонсенс-кодонов, возникающих в результате мутаций в генах *SUP45* или *SUP35*. Нонсенс-мутанты (*sup35-n*) характеризуются присутствием N-терминальных фрагментов Sup35p, сохраняющих прион-формирующий домен, что может приводить к индукции [PSI⁺]. Нами также охарактеризованы миссенс-мутации *sup35*, приводящие к летальности клеток дрожжей при совмещении с прионом [PSI⁺]. Эти мутации приводят к аминокислотным заменам в С-терминальной части Sup35p. Возможно, что летальность обусловлена изменением свойств фактора терминации трансляции Sup35/eRF3. Ранее с помощью разработанных нами уникальных систем скрининга мы выявили несколько генов, которые разными способами могут влиять на терминацию трансляции. В докладе будут представлены данные о возможном влиянии белков, кодируемых этими генами, на процесс терминации трансляции.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РНФ 23-14-00063 и ресурсного центра СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий».



Новый функциональный амилоид, регулирующий морфогенез оболочки яйца *Drosophila melanogaster*

С.П. Задорский^{1,2}, А.А. Валина^{1,2}, В.А. Синюкова¹, Т.А. Белашова^{1,3}, С.А. Галкина², А.П. Галкин^{1,2}

¹ Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики РАН им. Н.И. Вавилова

² Кафедра генетики и биотехнологии СПбГУ

³ Лаборатория Биологии амилоидов СПбГУ

zadorsky@mail.ru

Плодовая мушка *Drosophila melanogaster* — популярный классический модельный объект, успешно используемый в генетике развития. Различные структуры дрозофилы на всех стадиях развития хорошо изучены и подробно описаны. Вместе с тем, недавно мы показали, что некоторые специализированные структуры оболочки яйца *D. melanogaster* включают в себя сеть амилоидных фибрилл. Эту амилоидную сеть формирует белок хориона s36. Белок s36 колокализуется с амилоид-специфичными красителями Конго красным и Тиофлавином S в таких структурах оболочки яйца, как микропиле, плавательные усики и столбики (pillars). Рекомбинантный белок s36 образует амилоидные агрегаты *in vitro*. Мы выделили из яиц дрозофилы фибриллы белка s36 при помощи иммунопреципитации и показали, что они также обладают амилоидными свойствами. Фибриллы s36, выделенные из яиц, так же, как фибриллы, полученные *in vitro*, детектируются с помощью электронной микроскопии. При окрашивании Конго красным эти фибриллы демонстрируют характерное для амилоидов желто-зеленое свечение за счет двойного лучепреломления в поляризованном свете. Амилоидная агрегация s36 происходит только при секреции этого белка из фолликулярных клеток в оболочку яйца. При инактивации гена CG33223, регулирующего этот процесс, нарушение секреции белка s36 препятствует его амилоидной агрегации. В результате изменяется морфология эндохориона и блокируется развитие микропиле, плавательных усиков и столбиков (pillars), что приводит к стерильности. Полученные нами данные являются первым примером того, что амилоидные фибриллы могут быть необходимы для регуляции морфогенеза. Мы предполагаем, что при контакте специализированных фолликулярных клеток с экстраклеточными фибриллами белка s36 активируется сигнальный путь, запускающий последовательные клеточные деления, необходимые для образования специализированных структур оболочки яйца.



Комплексы CDK1/CDC28, SAGA, RENT и хронологическое старение

Н.А. Колтова¹, Р. Христова², А. Господинов²

¹ Объединенный институт ядерных исследований, Дубна

² Институт молекулярной биологии БАН, София, Болгария

koltovaya@jinr.ru

С возрастом происходит снижение общего количества митохондрий, нарушение их внутренней структуры, снижается общее количество мтДНК, накапливаются различные повреждения мтДНК, происходит усиление образования активных форм кислорода (АФК). Митохондрии служат источником эндогенных радикалов кислорода, в частности супероксид аниона. АФК, в свою очередь, активируют апоптотический путь, приводящий к гибели клеток. Уровень АФК может оказывать влияние также на копияность мтДНК. Изучение механизмов стабилизации мт генома представляет несомненный научный и практический интерес. Хорошей моделью являются дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, которые сохраняют жизнеспособность даже в отсутствии мтДНК (*rho*⁰ мутанты).

Было получено несколько ядерных мутаций, снижающих мутагенез и стабилизирующих мт геном, в том числе локализованных в генах *SRM5/CDC28*, *SRM12/ADA1* и *SRM8/NET1*, кодирующих субъединицы комплексов CDK1, SAGA и RENT, отвечающих за фосфорилирование, ацетилирование и деацетилирование (Sir2) гистонов. Используя метод амплификации ПЦР–РТ провели анализ копияности мтДНК. У проанализированных мутантов копияность мтДНК возросла примерно в два раза.

Используя два метода, определение КОЕ (колонии-образующие единицы) и окраска клеток флуоресцентными красителями АО/PI, проанализировали хронологическое старение мутантных клеток. Было показано, что мутации, несмотря на стабилизацию мт генома, снижают жизнеспособность клеток с возрастом, а удаление мтДНК усиливает эффект. Известно, что мутация *ada1/srm12* ускоряет и репликативное старение (Sinclair et al., 1997).

Основной причиной хронологического старения является накопление в среде продукта метаболизма дрожжей — уксусной кислоты, которая индуцирует апоптотическую гибель клеток. Провели анализ выживаемости клеток при обработке перекисью, индуцирующей апоптоз, а также с помощью флуоресцентного красителя (AnnexinV-FITC/PI) прямую оценку индукции апоптоза перекисью и в процессе старения культур. Кроме того, исследовали влияние мутаций на оксидативную активность штаммов с помощью жидкостной цитометрии и специализированных красителей АФК (H_2DCFDA , DHR123, DHE). Наблюдалась корреляция данных. Можно предположить, что комплексы CDK1, SAGA и RENT участвуют в регуляции апоптоза.



Антимикробные свойства и структура амилоидогенных пептидов

С.В. Кравченко¹, О.В. Галзитская², С.Ю. Гришин²

¹ Институт экологической и сельскохозяйственной биологии (Х-БИО), Тюменский государственный университет, 625003 Тюмень

² Институт белка РАН, 142290 Пущино, Московская область
svkraft@yandex.ru

В последнее десятилетие много усилий было направлено на идентификацию, выделение и определение характеристик олигомерных частиц, которые образуются в растворе до появления фибрилл. Интерес к таким олигомерам обусловлен двумя причинами. Перед образованием амилоида под действием пептидов Аβ происходит ряд метастабильных нефибриллярных образований. Одни из них напоминают сферические бусины диаметром 2–5 нм, другие — бусины, нанизанные на леску, причем отдельные бусины также имеют диаметр 2–5 нм. Все эти агрегаты называются протофибриллами [1–3], но их не следует путать с понятием протофибрилл (отдельных нитей зрелых волокон): протофибриллы, состоящие из пептидов Аβ, могут связываться с Конго красным и тиофлафином Т [3], содержат множество бета-структур, состоят из ~20 молекул и образуют небольшие сферические частицы.

Интерес к образованию Аβ-олигомеров был вызван, в частности, тем, что подобные частицы были обнаружены в мозге пациентов с болезнью Альцгеймера [4], а также в лизатах и обогащенных средах клеток, экспрессирующих белки-предшественники Аβ [5, 6]. Таким образом, экспериментальные данные свидетельствуют о том, что структурированные протофибриллы образуются в результате адгезии и реорганизации небольших, относительно неструктурированных олигомеров, которые формируются практически одновременно с началом процесса агрегации [7].

Изучение механизмов патологической агрегации белков и поиск потенциальных агентов, ингибирующих процесс фибрилляции и активирующих процесс деагрегации, является актуальной темой на сегодняшний день. Есть надежда, что современные подходы позволят разработать и синтезировать эффективные нетоксичные пептидные ингибиторы фибриллогенеза в инсулиновых препаратах. В конечном итоге будут разработаны пептиды или группы пептидов, ингибирующие амилоидный фиброгенез Аβ-пептидов, α-синуклеина, инсулина и их аналогов. Таким образом, будет сделан важный шаг к решению проблем, связанных с токсичностью как самого амилоида, так и потенциальных ингибиторов, которые могут быть использованы в медицинской практике на клетках человека. Новые нетоксичные ингибиторы образования амилоида могут быть использованы для рациональной разработки в будущем новых лекарств, не содержащих токсичных компонентов.

1. Weber, C.; Kammerer, D.; Streit, B.; Licht, A. H. Phenolic Excipients of Insulin Formulations Induce Cell Death, pro-inflammatory Signaling and MCP-1 Release. *Toxicology Reports* 2015, 2, 194–202, doi:10.1016/j.toxrep.2014.11.019.
2. Paiva, T. O.; Bastos, A. E. P.; Marquês, J. T.; Viana, A. S.; Lima, P. A.; de Almeida, R. F. M. M-Cresol Affects the Lipid Bilayer in Membrane Models and Living Neurons. *RSC Advances* 2016, 6, 105699–105712, doi:10.1039/C6RA20337J.
3. Das, A.; Gangarde, Y. M.; Pariary, R.; Bhunia, A.; Saraogi, I. An Amphiphilic Small Molecule Drives Insulin Aggregation Inhibition and Amyloid Disintegration. *International Journal of Biological Macromolecules* 2022, 218, 981–991, doi:10.1016/j.ijbiomac.2022.07.155.
4. Roher, A. E., Chaney, M. O., Kuo, Y. M., Webster, S. D., Stine, W. B., Haverkamp, L. J., Woods, A. S., Cotter, R. J., Tuohy, J. M., Krafft, G. A., Bonnell, B. S., and Emmerling, M. R. (1996) Morphology and toxicity of Abeta-(1–42) dimer derived from neuritic and vascular amyloid deposits of Alzheimer's disease, *J. Biol. Chem.*, 271, 20631–20635.
5. Podlisny, M. B., Ostaszewski, B. L., Squazzo, S. L., Koo, E. H., Rydel, R. E., Teplow, D. B., and Selkoe, D. J. (1995) Aggregation of secreted amyloid -protein into sodium dodecyl sulfate-stable oligomers in cell culture, *J. Biol. Chem.*, 270, 9564–9570.
6. Walsh, D. M., Tseng, B. P., Rydel, R. E., Podlisny, M. B., and Selkoe, D. J. (2000) The oligomerization of amyloid-protein begins intracellularly in cells derived from human brain, *Biochemistry*, 39, 10831–10839.



Картирование прионных структур белка дрожжей Rnq1

В. Кушников¹, А. Галлямов¹, А. Малухина²

¹ ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

² ФИЦ Биотехнологии РАН, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

vkushnirov@mail.ru

Белок Rnq1 является одним из наиболее изученных дрожжевых прионов. Он имеет большую потенциально прионогенную С-концевую область из примерно 250 аминокислотных остатков. Однако данные предыдущего исследования предполагают, что лишь 40 С-концевых остатков образуют структуру приона. В данной работе мы картировали фактические и потенциальные прионные структуры, образуемые Rnq1 и его вариантами, усеченными с С-конца в двух штаммах [RNQ+], используя частичное расщепление протеиназой К. Расположение этих структур в большинстве случаев отличалось от предыдущих прогнозов, сделанных несколькими компьютерными алгоритмами. Паттерны агрегации, наблюдаемые микроскопически для гибридных белков Rnq1, значительно отличались от тех, которые ранее наблюдались для агрегатов прионов Sup35. Добавление GFP на С-конец Rnq1 существенным образом препятствовало образованию прионной структуры на С-конце Rnq1, хотя в некоторых случаях и не препятствовало ее образованию. Таким образом, гибридный белок Rnq1-GFP, в основном использовавшийся в предыдущих исследованиях, не может считаться надежным инструментом для изучения свойств приона Rnq1.

Исследование влияния фосфорилирования на структурные изменения белка

К.С. Никольский¹, Л.И. Куликова¹, Д.В. Петровский¹, В.Р. Руднев¹, А.Л. Кайшева¹

¹ Институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Москва, Россия

kirill.s.nikolsky@yandex.ru

Модификация белка после синтеза (посттрансляционная модификация, ПТМ) влияет на его функцию, что подтверждается многочисленными исследованиями. Однако среди ученых нет единого мнения о степени структурных изменений белка после модификации. Фосфорилирование серина, треонина и тирозина являются распространенными вариантами ПТМ в белках. Исследование[1] было посвящено изучению влияния фосфорилирования на изменения структуры белка. Это влияние анализировалось по изменению геометрических характеристик белка на локальном уровне, в окрестности ± 15 аминокислотных остатков от сайта фосфорилирования. Были выявлены следующие группы белков: группа, характеризующаяся значительными локальными изменениями (более 2Å) вблизи сайта модифицирования при незначительных глобальных изменениях для целого белка (группа N2), и группа белков, для которой не наблюдались значительные структурные изменения как на локальном уровне, вблизи сайта ПТМ, так и на глобальном уровне (группа N3). Было выявлено, что модифицированные аминокислоты в белках могут располагаться как в регулярных элементах вторичной структуры (α -спирали, β -тяжи), так и в неструктурированных областях. Кроме того, сайт модификации может находиться на стыке неструктурированной и структурированной областей. Это справедливо для обеих групп (N2 и N3), но в разной степени: в группе N3 сайты ПТМ чаще локализованы в α -спиралях или на границе неструктурированного участка, в то время как значимые изменения геометрии группы N2 обусловлены ПТМ, локализованными в центре неструктурированной области.

Сравнительный анализ показал гетерогенность структурных изменений, происходящих в белке после фосфорилирования. В отдельных случаях выявлены значительные структурные изменения вблизи сайта модификации, вплоть до изменения вторичной структуры (рис. 1).

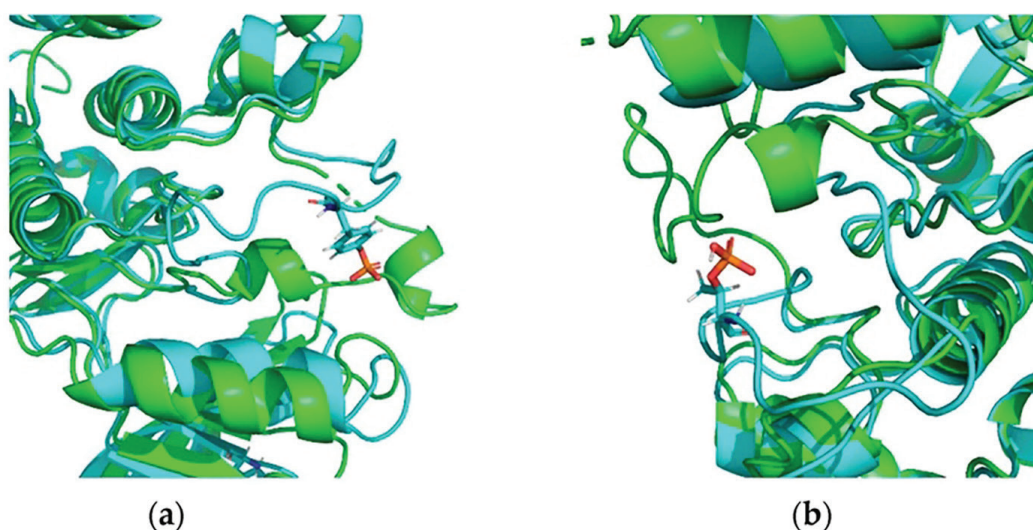


Рисунок 1. Ленточная модель наложения интактной формы (зеленый) и модифицированной формы (голубой) для: (а) протоонкогена тирозинкиназы Src (PDB ID 1YI6), 416PTR; (б) циклинзависимой киназы 2 (PDB ID 1E9H), 160TPO



Белки в составе групп N2 и N3 являются участниками большого числа биологических процессов. В белках группы N2 сайт фосфорилирования обычно расположен внутри или вблизи сайта связывания с белками-партнерами. В белках группы N3 сайт фосфорилирования обычно удален от сайтов связывания с белками-партнерами, при этом литературные данные указывают на то, что фосфорилирование также регулирует активацию/деактивацию таких белков.

Структурные изменения в модифицированных белках неоднородны, и степень этих изменений варьирует. Исследование влияния ПТМ на структуру и функцию белка является важной задачей в области структурной биологии и биомедицины.

1. *Nikolsky K. S. et al. Analysis of Structural Changes in the Protein near the Phosphorylation Site. Biomolecules. 2023 Oct 24;13(11):1564. doi: 10.3390/biom13111564.*



Альтернативный сплайсинг и разнообразие форм GDNF – нейротрофактор или нейротропик?

Г.В. Павлова¹, Дж.В. Шамадыкова², В.В. Паршина², Д.Ю. Пантелеев², А.В. Ревещин²

¹ ИВНД и НФ РАН, Москва

² ИВНД и НФ РАН_Москва

lkorochkin@mail.ru

Болезнь Паркинсона является вторым по распространенности возрастным нейродегенеративным расстройством после болезни Альцгеймера. От 7 до 10 миллионов человек во всем мире страдают болезнью Паркинсона. В первую очередь эта болезнь характеризуется дегенерацией дофаминергических нейронов. На данный момент подходы к терапии болезни Паркинсона нельзя назвать эффективными. В связи с этим чрезвычайно актуальным является поиск новых факторов, способных приостановить течение заболевания или, в идеале, восстанавливать жизнеспособность дофаминергических нейронов в мозгу.

Один из интересных и перспективных факторов, который рассматривается как кандидат на терапию болезни Паркинсона — это глиальный нейротрофический фактор (GDNF). GDNF занимает приоритетные позиции при использовании в качестве нейротрофактора и индуктора нейральной дифференцировки прогениторных/стволовых клеток.

GDNF необходим для поддержания жизнеспособности дофаминергических нейронов головного мозга, а также периферических, симпатических, парасимпатических и сенсорных нейронов. При защите поврежденных нейронов он обладает в 5–10 раз большей эффективностью, чем BDNF. Широкий диапазон свойств GDNF не мог не обратить на себя внимание как ученых, так и разработчиков лекарственных средств. Доклинические исследования, которые были проведены на грызунах и приматах, показали эффективность GDNF как потенциального терапевтического агента. Однако результаты клинических испытаний на людях оказались противоречивыми. Клинические исследования рекомбинантного GDNF при интрацеребровентрикулярном введении пациентам с болезнью Паркинсона показали, что улучшения были незначительны или отсутствовали. Введение рекомбинантного GDNF в полосатое тело мозга пациента с помощью минипомпы на I фазе клинических испытаний показывало положительный эффект. Впоследствии данный эффект не был подтвержден на II-ой фазе двойных слепых клинических испытаний. Возможно, причина неудач клинических испытаний обусловлена тем, что в исследованиях была использована изоформа GDNF, которая поддерживает жизнеспособность нейронов в норме, но не обладает высокой нейротропической способностью. Нами были обнаружены малые формы xGDNF, которые обладают преимущественно нейротропическими свойствами, а малые размеры могут помогать преодолению гематоэнцефалического барьера. Эти изоформы можно рассматривать как перспективные терапевтические молекулы не только для болезни Паркинсона, но и для других нейродегенеративных заболеваний. Сформулирована концепция о возможности создания терапевтического подхода на основе управления каскадами нейральной дифференцировки прогениторных клеток нормы и патологии. Используя воздействие на главные регуляторы эволюционно консервативных систем, которые управляют нейрогенезом, можно достигнуть «созревания» клеток нейрального ряда, что привлекательно для использования в терапии при нейродегенеративных заболеваниях.

Симпозиум 7: Эволюционная генетика
Symposium 7: Evolutionary Genetics



Phylogenomic study of the evolutionary relationships of soft pines, genus *Pinus*, subgenus *Strobus*

D.V. Politov¹, M.G. Dasgupta², K.V. Krutovsky^{1 3 4 5}

¹ Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow

² ICFRE-institute of Forest Genetics and Tree Breeding, R. S. Puram, Coimbatore, India

³ Department of Forest Genetics and Forest Tree Breeding, Georg-August University of Göttingen, Göttingen, Germany

⁴ Institute of Fundamental Biology and Biotechnology, Siberian Federal University, Krasnoyarsk

⁵ Scientific and Methodological Center, G.F. Morozov Voronezh State University of Forestry and Technologies, Voronezh
dmitri_p@inbox.ru

Taxonomic relationships among species of the Genus *Pinus* (Pinophyta: Pinales: Pinaceae), belonging to the so-called soft pines (subgenus *Strobus*), have been the subject of debate throughout the entire period of their study. The monophyletic origin of this subgenus is beyond doubt, but the belonging of individual species to certain subsections, their monophyly or polyphyly, and the relationships between them remain controversial issues. We analyzed the nucleotide sequences of 191 orthologous nuclear genes from NCBI GenBank. Two species of hard pines (subgenus *Pinus*), *P. radiata* and *P. taeda*, have been used as an outgroup. After alignment, exclusion of sites with missing data, and concatenation, two data sets were generated consisting of individual and consensus sequences, respectively. To reconstruct the phylogeny, three approaches were applied to both datasets: 1) the maximum likelihood (ML) method implemented in the RAxML ver. 8.2.10, 2) a coalescent-based species tree estimation from multiple gene trees implemented in ASTRAL-III ver.

4.5.1, and 3) the «supertree» method implemented in FastRFS ver. 1.0. In general, the resulting phylogenetic trees were consistent with phylogenetic patterns previously published using individual organelle genes (Gernandt et al., 2005), transcriptome-(Jin et al., 2021) and genome-wide (Stull et al., 2021) data. Our data do not support the monophyly of stone pines (subsection *Cembrae* sensu Critchfield & Little, 1966), but three species of this subsection, *P. cembra*, *P. sibirica*, and *P. koraiensis*, form a clade with high statistical support in all three analyses. Another regularly appearing clade consisted of Asian species of the section *Quinquefolia*: *P. wallichiana* and *P. armandii*. The North American species *P. ayacahuite*, *P. strobiformis*, and *P. flexilis* also cluster together with high support, but the topology of the trees does not allow the conclusion that individuals of each of these species have a monophyletic origin. It is obvious that genomic data significantly complement the results based on a few individual genes used to study pine taxonomy previously. However, some contradictions between various phylogenetic reconstructions remain even with a manifold increase in the number of genes used in the analysis. The poor resolution of individual clades and multiple polytomies are likely due to the complex evolutionary history of pines, including episodes of interspecific hybridization and gene introgression (reticular evolution).

The study was supported by the State program No. 122022600161–3 of the Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences.



Реконструкция эволюционной истории, филогении и системы млекопитающих в эпоху геномики: успехи, новые вызовы, перспективы и ограничения

Н.И. Абрамсон¹

¹ Зоологический институт РАН

natalia_abr@mail.ru

По мере быстрого развития высокопроизводительного секвенирования, биоинформатики и накопления полногеномных данных по разным таксонам, возникла иллюзия, что вскоре все пробелы в нашем знании об эволюции и структуре разнообразия, по крайней мере, такого таксона, как плацентарные млекопитающие, будут заполнены, спорные узлы в филогении разрешены. Среди удивительных результатов геномных исследований популяций, как современных, так и плейстоценовых видов, в частности, то, что межвидовая гибридизация оказалась удивительно распространенным явлением и, возможно, частично обусловлена периодическими трансформациями среды обитания, связанным с ледниковыми периодами. Стало понятно, что видообразование не всегда представляет собой простой процесс кладогенеза, за которым следует репродуктивная изоляция и, вероятно, целый ряд критериев вида и концепций (БКВ, концепция узнавания) следует переосмыслить с учетом этих данных. Для экологов и биологов-эволюционистов очень важный результат масштабных полногеномных исследований в том, что они помогли идентифицировать генетические локусы, ответственные за адаптивные изменения немодельных организмов. Полногеномное сканирование выборок из нескольких дивергентных популяций позволяет выявлять участки, имеющие крайние уровни дифференциации и, вероятно, находящиеся внутри или рядом с генами, участвующими в формировании экологических адаптаций. Масштабные исследования геномов современных и вымерших млекопитающих позволили выявить изменения в белок кодирующих генах, связанные с более высокими показателями положительного отбора, гены, ассоциированные с развитием фенотипических адаптаций к определенным условиям среды, определить время возникновения адаптивных мутаций. Кроме того, эти исследования внесли очень серьезные коррективы в представления о филогенетических связях и систематику млекопитающих на самых разных таксономических уровнях, выявили ошибки в определении таксонов, криптическое разнообразие и другое. В то же время, вместе с колоссальными успехами филогеномики, включая и палеогеномику, яснее стали проступать и новые вызовы и возможные пределы геномных подходов, на которых я хочу специально остановиться и обсудить, все ли пробелы могут быть заполнены даже при наличии хороших полногеномных данных. В своем сообщении я попытаюсь, обобщая накопившиеся литературные данные и опыт собственных исследований, не только привлечь внимание к принципиально новым направлениям исследований, к пробелам которые удалось заполнить с помощью геномных подходов, но и к новым вызовам и возникающим сложностям, нерешенным проблемам. Мое сообщение будет в основном иллюстрировано примерами из прошлых и нынешних дебатов, касающихся филогенетической и эволюционной истории одной из самых молодых, многочисленных и широко распространенных в Северном полушарии групп грызунов — подсемействе полеvoчьих (Arvicolinae). Вопросами филогении систематики и эволюционной истории этого подсемейства наш коллектив занимается последние 15 лет, в том числе с применением методов секвенирования нового поколения и палеогеномного анализа. Среди ограничений и вызовов, я прежде всего остановлюсь на проблеме неполноты таксономических выборок, связанной с труднодоступностью материала по некоторым современным видам и очень ограниченной по времени (не более 1млн лет) возможностью исследования вымерших форм. Современное разнообразие млекопитающих в каждой группе представляет собой лишь малую порцию прошлого разнообразия, и, как следствие, на филогенетических деревьях мы сталкиваемся с «эффектом притяжения длинных ветвей». Большинство крупных таксонов возникло вследствие очень быстрой адаптивной радиации, вследствие этого — короткие внутренние ветви на филогенетических деревьях в основании крупных таксонов. Короткие ветви приводят к плохому разрешению («кустообразным деревьям») или политомиам. Еще одна сложность — датировка деревьев и построение единой системы вымерших и современных форм.



Цитогенетика в исследованиях эволюции пшеницы и ее сородичей

Е. Д. Бадаева¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН

katerinabadaeva@gmail.com

Впервые методы цитогенетики в эволюционных исследованиях пшеницы и ее сородичей были применены российскими учеными Авдуловым Н. И., Левицким Г. А., Сорокиной О. В., Сеняниновой-Корчагиной М. В. в конце 20-х – начале 30 гг. XX века. Большой вклад в развитие цитогенетики злаков внесли работы А. Б. Иорданского (ИМБ, Москва) и А. И. Щаповой (ИГиГ, Новосибирск), которые одними из первых в мире провели дифференциальное окрашивание хромосом по Гимза на пшенице и ржи. С того времени цитогенетические исследования злаков продолжают ряд лабораторий российских институтов, включая Институт общей генетики им. Вавилова РАН. Мы изучаем селекционный материал и коммерческие сорта пшеницы, а также межвидовые и межродовые гибриды с целью получения детальной характеристики их кариотипов и создания «хромосомных паспортов», для выявления и идентификации хромосомных перестроек и выявления чужеродного генетического материала в селекционных линиях, полученных с помощью отдаленной гибридизации. Вплоть до настоящего времени именно цитогенетический анализ остается наиболее быстрым и надежным способом идентификации хромосомных перестроек, несмотря на значительный прогресс, достигнутый в характеристике генома пшеницы с помощью молекулярных методов. Важной областью применения цитогенетики является установление генетического родства хромосом разных видов злаков с хромосомами мягкой пшеницы на основании анализа спектров замещений у гибридов, а также использования группо-специфичных FISH-маркеров. В частности, в нашей лаборатории была разработана генетическая классификация хромосом *T. timopheevii*, а также номенклатура хромосом ряда видов *Aegilops*. Высокий полиморфизм рисунков С-окрашивания хромосом пшеницы дает возможность использовать цитогенетический подход в оценке внутривидовой и межвидовой изменчивости, определении района одомашнивания пшеницы и путей ее распространения. Цитогенетические подходы, особенно FISH, необходимы для анализа структурной организации хромосом. Не вызывает сомнения, что дальнейший прогресс цитогенетики пшеницы и ее сородичей будет неразрывно связан с развитием геномики. Так, результаты расшифровки генома мягкой пшеницы в результате выполнения международного проекта Genome sequencing projects уже используются при разработке новых молекулярно-цитогенетических маркеров для идентификации хромосом, их районов или создания комплексных зондов для маркирования отдельных генетических групп. В свою очередь, цитогенетический анализ необходим при физическом картировании хромосом, исследованиях хромосомной структуры и эволюции кариотипов.



Формирование гибридной стерильности у некоторых представителей отряда *Rodentia*

Т.И. Бикчурина^{1,2}, И.В. Картавцева³, Ф.Н. Голенищев⁴

¹ Новосибирский государственный университет, Новосибирск

² Федеральный исследовательский центр институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

³ Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Владивосток

⁴ Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург

antanimka@gmail.com

Ранние стадии видообразования всегда вызывали интерес исследователей в различных областях: эволюционной биологии, цитогенетики, молекулярной биологии. Гибридная стерильность это один из распространенных механизмов начала формирования репродуктивной изоляции у млекопитающих. Однако ряд вопросов касательно цитогенетических механизмов ее возникновения остается до конца не решенным. В докладе будут рассмотрены ответы на некоторые существующие вопросы на примерах из отряда *Rodentia*, крайне многочисленного по числу входящих видов.

Существует несколько классических гипотез, объясняющие механизм видообразования. Первая — это модель Добжанского-Меллера, в которой небольшие генетические различия в исходных видах приводят к значительным эффектам в их гибридах. Яркий современный пример — ген *Prmd9*, различия в аллелях по которому приводят к тому, что потомки между разными подвидами домашней мыши оказываются стерильны. Это единственный ген гибридной стерильности у млекопитающих, для которого была подробно описана его молекулярная функция.

В настоящее время рассматривается также серия гипотез, объясняющих, как кариотипические различий в разных видах могут приводить к гибридной стерильности у их потомков: модель подавления рекомбинации в районах хромосомных перестроек, а также модель гибридной дисфункции. Вторая предполагает, что особи, гетерозиготные по хромосомным перестройкам, частично или полностью стерильны из-за нарушений сегрегации хромосом в процессе мейотических делений. Однако у таких гетерозигот проблемы прохождения мейоза начинаются раньше, на стадии пахитены: у гомологичных хромосом затруднен синапсис. Один из примеров: виды рода *Alexandromys*, несмотря на то, что дивергировали совсем недавно — около 0,1 млн лет назад — различаются по множеству хромосомных перестроек, и их гибриды стерильны.

Постепенное накопление замен в нуклеотидных последовательностях у двух аллопатричных видов само по себе способно вызвать схожие проблемы прохождения мейоза. Затруднение опознавания участков гомологии приведет к асинапсису хромосом, что может, в свою очередь, стать причиной стерильности гибрида. Этот генетический фактор сыграл важную роль в формировании стерильности между представителями некоторых видов рода *Microtus*.

Таким образом, для видов, различающихся по степени генетической и кариотипической дивергенции, полный или частичный асинапсис хромосом может приводить к нарушению гаметогенеза. Однако значимый вклад в асинапсис хромосом могут вносить разные факторы: как продолжительность независимой эволюции родительских таксонов, так и кариотипические особенности родительских видов.

Работа выполнена при поддержке гранта Министерства Образования и Науки РФ FSUS-2024–0018.



Неадаптивная эволюция растений. Моделирование процессов

Е. Ю. Андрианова¹, О. А. Павлова^{2, 3}, И. А. Владимиров², Е. А. Скребенков¹, Д. И. Богомаз^{1, 2}

¹ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого (СПбПУ)

² ООО «Бигль»

³ АО «МЦРМ»

bogomazden@mail.ru

Снижение общей адаптивности у популяции, как это ни парадоксально, бывает востребовано в отдельные эволюционные моменты самыми разными таксономическими группами организмов. Первым это заметил и наглядно продемонстрировал в «ландшафте приспособленности» Сьюэл Райт в 30-х годах XX века. Фактически это первая модель для понимания значимости явления неадаптивной эволюции. Идеи Райта были развиты Фишером, Кимура и другими генетиками-эволюционистами. В результате их работ стали хрестоматийными понятия «дрейф генов», «бутылочное горлышко», «эффект основателя».

Известные примеры закрепления Т-ДНК в геноме растений в ходе эволюции до сегодняшнего момента в литературе обсуждалось исключительно как приспособительное (положительное) явление. Однако обсуждаемые гипотезы при детальном рассмотрении не выдерживают критики.

Экспериментальные данные демонстрируют отсутствие каких-либо значимых адаптивных свойств Т-ДНК для растений. Еще сложнее представить адаптивность многократного последовательного захвата Т-ДНК в эволюции некоторых видов. Мы взяли за основу наблюдаемое и описанное в работах вредоносное и неадаптивное влияние Т-ДНК на растения. Решением проблемы, с одной стороны, неадаптивности природной агробактериальной трансформации и многочисленные факты закрепления Т-ДНК у разных семейств растений, с другой стороны, является представляемая модель.

Результатом работы стало теоретическое обоснование возможности неслучайного и направленного закрепления признаков, несущих отрицательную адаптивность («вредных») в популяции растений. Онлайн версия математической модели доступна по ссылке: <https://evo.biobeagle.com/> Также в работе рассмотрены возможные генетические предпосылки развития сценария эволюционной ловушки в популяциях Т-ДНК-содержащих растений.

Исследование выполнено при поддержке программы «Приоритет 2030» (№ 75-15-2021-1333 от 30.09.2021) и финансовой поддержке ООО «Бигль».



Необычные варианты геномной и кариотипической эволюции у эукариот

К.С. Задесенец¹, Н.И. Ершов¹, Н.Б. Рубцов¹

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН

rubt@bionet.nsc.ru

Полногеномная дупликация (ПГД) — это эволюционное событие, приводящее к избыточности генетического материала. Мы впервые описали особенности геномной и кариотипической пост-ПГД эволюции у свободноживущих плоских червей рода *Macrostomum*. Кариотипы представителей этого рода отличаются (число, размер и морфология хромосом), их можно разбить на три группы: (1) $2n = 6$; (2) $2n = 12$; (3) $2n = 8-10$. Молекулярно-цитогенетический анализ хромосом видов из групп (1) и (2) не выявил в их кариотипах паралогичных хромосом или их районов, что указывает на отсутствие недавних событий ПГД в их эволюционной истории.

Виды из группы (3) являются скрытыми полиплоидами и характеризуются крайне нестабильным хромосомным числом. Они принадлежат двум филогенетическим линиям, возникшим вследствие независимых событий разных ПГД: *Macrostomum lignano*/*M. janickei* (автополиплоидизация) и *M. mirumnovem* (аллополиплоидизация). В обеих линиях цитогенетическая диплоидизация сопровождалась интенсивными хромосомными перестройками, включающими слияния одного комплекта предковых хромосом в одну крупную хромосому (показано с помощью ДНК-проб из индивидуальных хромосом с последующей их гибридизацией *in situ*, а также гибридизацией *in situ* локус-специфичных ДНК-проб).

Проведение оригинального биоинформатического анализа данных секвенирования геномной ДНК *M. lignano* (DV1) полученных нами лабораторных сублиний, отличающихся по числу крупных хромосом ($2n = 8$ vs. $2n = 10$) хромосомспецифичных ДНК-библиотек, выявило различия (SNP, indels) между копиями крупной хромосомы у *M. lignano*. Необычный механизм редиплоидизации неополплоидного генома *M. lignano* заключается в наличии трех субгеномов, возникших путем образования крупной хромосомы и ее вариантов, и поддержании их гетерозиготности за счет меж- и внутрихромосомных перестроек. Возникновение близкородственного вида *M. janickei* ($2n=10$), вероятно, произошло вследствие удвоения числа копий дивергировавших копий крупной хромосомы и изменения таким образом плоидности предкового генома из тетраплоидного в гексаплоидное состояние.

Эволюция генома в линии *M. mirumnovem* включала активное расселение и амплификацию повторенных элементов; формирование крупных районов хромосом, обогащенных повторами; возникновение многочисленных В-хромосом; формирование огромного кариотипического разнообразия по числу, составу и морфологии А- и В-хромосом.

Благодарности: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-24-00141, <https://rscf.ru/project/24-24-00141/>.



Генетическая изменчивость бактерий рода *Spiroplasma* (*Mollicutes*)

Ю.Ю. Илинский¹, Р.А. Быков¹, М.А. Деменкова¹, А.С. Рябинин¹, П.С. Деменков¹

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

paulee@bionet.nsc.ru

Бактерии рода *Spiroplasma* — это монофилетическая группа бактерий, сожительствующая с растениями, позвоночными и беспозвоночными хозяевами. Отдельные виды спироплазм являются патогенами экономически значимых растений (кукуруза, цитрусовые культуры) и членистоногих (медоносная пчела, ракообразные), а *S. mirum* — патоген человека, вызывающий катаракту новорожденных. Кроме того, известно влияние *Spiroplasma* на соотношение полов в популяциях разных видов насекомых, а также описаны феномены (в отдельных случаях вскрыты механизмы) защиты насекомого-хозяина от ос-наездников (Hymenoptera).

Актуальными вопросами являются установление эволюционной истории спироплазм, выявление генетических связей между видами, разработка эффективных приемов выявления и идентификации этих бактерий. Сложности в решении этих вопросов обусловлены редуктивной эволюцией геномов спироплазм, для которой характерны высокий темп потери генов и быстрая эволюция последовательностей генов, а также интенсивный горизонтальный перенос генов между родословными. Все это затрудняет создание унифицированного набора генов для мультилокусного анализа. Действительно, симбиотические бактерии часто теряют гены, при этом в разных родословных — разные. Так, размер геномов большинства спироплазм составляет менее 1,5 млн п. о., а в некоторых случаях значительно ниже 1 млн п. о. К настоящему моменту описано около 40 видов *Spiroplasma*, которые, основываясь на филогении по 16S рРНК, относятся к не менее чем пяти кладам: *Apis*, *Citri*, *Chrysopicola*, *Mirum*, *Ixodietis*.

В нашей работе мы пытаемся создать на основе сравнительного геномного анализа новые молекулярно-генетические маркеры ПЦР для диагностики и филогенетического анализа изолятов *Spiroplasma*, а также проводим скрининг бактерии у членистоногих для определения генетического разнообразия симбионта и границ её распространённости у таксономических и экологических групп видов-хозяев.

Работа поддержана РНФ № 24-24-00378.



Генетическая структура степного сурка (*Marmota bobak* Müller, 1776) на основе изменчивости маркеров митохондриального генома

С. Ю. Капустина¹, А. Р. Тухбатуллин¹, В. Г. Тамбовцева¹, А. А. Грачев², О. В. Брандлер¹

¹ Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, г. Москва

² Институт зоологии Республики Казахстан, г. Алматы

SvetKapust@gmail.com

Филогеографическая структура широкоареальных видов не только дает возможность проследить историю становления вида и формирования его ареала, но и отражает изменения экосистем в целом. Степной сурок, или байбак (*Marmota bobak* Müll., 1776), имеет обширный и в настоящее время значительно фрагментированный ареал, протянувшийся в широтном направлении от восточных частей Украины до левого бережного Прииртышья. Этот вид обитает преимущественно в степных и лугово-степных биотопах.

На основании изменчивости морфологических признаков были описаны три подвида степного сурка: номинативный «европейский или западный» (*M. b. bobak*), «казахстанский или восточный» (*M. b. schaganensis* Bazhanov, 1930) и «приволжский» (*M. b. kozlovi* Fokanov, 1966). Области распространения этих подвидов до сих пор точно не определены, а последний подвид признается не всеми специалистами. Генетическая изменчивость этого вида к настоящему времени практически не исследована. Исследование внутривидовой молекулярно-генетической изменчивости степного сурка, являющегося ключевым видом степных биоценозов и объектом промысла, актуально как для понимания истории формирования степных биоценозов Евразии, так и для решения проблем внутривидовой систематики, что необходимо для рационального использования и сохранения вида.

Была исследована изменчивость маркеров мтДНК: полноразмерных последовательностей контрольного региона (CR) и цитохрома *b* (*cytb*), и фрагмента первой субъединицы цитохромоксидазы (COI) общей длиной 2822 п. н. В исследование вошел материал от 103 сурков из популяций, расположенных во всех частях ареала, а также из terra typica *M. b. schaganensis* и *M. b. kozlovi*. Был проведен филогенетический анализ консенсусных последовательностей при помощи метода максимального правдоподобия (ML) и построено филогенетическое древо, в качестве внешней группы использовали последовательности серого (*M. baibacina*) и монгольского (*M. sibirica*) сурков. Устойчивость узлов ветвления определялась на основе 1000 реплик бутстрэпа.

На филогенетическом древе *M. bobak* с высокими значениями бутстрэп поддержки формируются два основных кластера, один из которых объединяет две ветви. Наиболее базальный кластер включает сурков из восточного Казахстана: Павлодарской, Карагандинской областей и восточной части Акмолинской области. Часть гаплотипов сурков из этого региона образует одну из ветвей второго кластера, объединяясь с гаплотипами сурков из Костанайской области Казахстана. Третья ветвь наиболее разнородна и включает сурков с западных частей ареала (Украина и Европейская часть России), Южного Урала и Северного Казахстана. Образцы сурков европейского подвида и из terra typica казахстанского и приволжского подвидов вошли в последний кластер.

Обнаруженная нами молекулярно-генетическая изменчивость степного сурка не совпадает с подвижным делением. Генетические различия между особями описанных подвидов незначительны. В то же время восточная часть ареала, традиционно считающаяся заселенной казахстанским подвидом, населена сурками, относящимися к двум различным филетическим линиям, имеющим значительные генетические отличия от сурков из места описания этого подвида.

Можно предположить, что генетическая структура восточных популяций степного сурка отражает плейстоценовые изменения климата и формировалась под воздействием неоднократно возникавших Тургайских спиллвеев, игравших роль физико-географического барьера. На генетическую неоднородность западных популяций, возможно, оказало влияние массовое расселение сурков во второй половине XX в.

Работа поддержана грантом РНФ № 23-24-00638.



Молекулярная систематика, филогенетика и эволюция водных организмов: фундаментальные и прикладные аспекты

Ю.Ф. Картавец¹

¹ Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского, Дальневосточное отделение Российской академии наук, Владивосток 690041, Россия

yuri.kartavtsev48@hotmail.com

1. Для идентификации гибридов и оценки интрогрессии или точнее межвидового потока генов наиболее подходит комбинация яДНК и мтДНК маркеров.

2. Имеющиеся факты об изменчивости яДНК и мтДНК делают как будто очевидной генетическую интрогрессию во многих таксонах животных и особенно растений, хотя даже для широких гибридных зон, например, комплекса мидий *Mytilus ex. group edulis*, интрогрессия может быть весьма ограниченной для большей части ареала или асимметричной, таким образом, сохраняя нетронутыми по меньшей мере некоторые «таксоны-источники».

3. Если принять, что бисексуальные морские и наземные виды имеют интрогрессированные гены, как это обнаружено для довольно большого числа видов, то, соответственно, надо согласиться с тем, что ортодоксальная БКВ, предполагающая полное отсутствия потока генов между видами, является неадекватной; в том смысле, что многие зоологические виды не являются еще в настоящий момент биологическими видами. Очевидно также, что раньше или позже они становятся таковыми. Это заключение поддерживается градуированно увеличенными генетическими расстояниями в иерархии таксономических категорий и наименьшей дивергенцией на внутривидовом уровне по отдельным генам мтДНК, по полным митогеномам, а также по генам яДНК (Kartavtsev, 2013, 2021; Hedges et al., 2015; Kartavtsev et al., 2016, 2021; Redin, Kartavtsev, 2022).

4. Недавнее исследование генетической дивергенции среди рыб и других животных (Kartavtsev, 2017, 2021; Redin, Kartavtsev, 2022) с использованием обширной базы данных BOLD (www.boldsystems.org) и других источников обнаружило, что генные деревья для таксонов до уровня семейства являются преимущественно монофилетическими, а межвидовые ретикуляции, соответственно, редки для большинства генных деревьев.

Все вышеперечисленные обобщения имеют ключевое значение для парадигм общей биологии, эволюционной генетики, а также для научной составляющей программ по изучению биоразнообразия, к примеру, глобальной iBOL (www.ibol.org), региональной RUS-BOL (<http://www.imb.dvo.ru/misc/barcoding/index.htm>) и других, в частности, являются ключевыми для практики идентификации видов при ДНК-штрихкодировании. Очевидно, что встречающаяся в подавляющем большинстве таксонов успешная идентификация видов на основе подхода ДНК-штрихкодирования, возможна благодаря преобладанию географического способа видообразования, позволяющего накопление стохастических мутаций/замен при формировании дочерних популяций вида и далее таксонов разного ранга в условиях изоляции, что выявляется посредством молекулярных маркеров (ДНК-штрихкодов). С этих позиций кажутся неоправданными заявления о несостоятельности существующей парадигмы ввиду обширной интрогрессии и ретикуляции в природе (Arnold, Fogarty, 2009; Arnold, 2008). Наоборот, имеющиеся данные позволяют заключить, что молекулярно-генетические данные в целом хорошо согласуются с БКВ и Нео-Дарвинизмом.



Филогеографические закономерности внутривидовой изменчивости *Tulipa suaveolens* Roth европейской России и прилегающих территорий

А.С. Кашин¹, Т.А. Крицкая¹

¹ Саратовский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского, г. Саратов
kashinas2@yandex.ru

Полихромный *Tulipa suaveolens* Roth произрастает на обширном ареале, простирающемся от Крыма до восточного Казахстана. Численность многих популяций сокращается под воздействием антропогенных факторов, и вид занесен в Красные книги РФ, Украины, Казахстана и Азербайджана. Мы использовали последовательности регионов *psbE-petL* хлДНК и ITS1–5.8S-ITS2 рДНК, а также ISSR-анализ для изучения генетического разнообразия образцов *T. suaveolens* европейской России и прилегающих территорий. В результате исследования выявлено два основных филогеографических тренда, в целом, совпадающих с очертаниями границ Раннехвалынской трансгрессии Каспийского моря в позднем плейстоцене. Популяции, представляющие первый филогеографический тренд, расположились преимущественно на высотах выше 50 м н. у. м. на территориях, не затопляемых водами Раннехвалынского моря. Популяции, представляющие второй филогеографический тренд, располагаются в зоне затопления на высотах от –9 до 26 м н. у. м. Выявленные биогеографические закономерности распределения пластидных гаплотипов, ядерных риботипов и генетических групп, установленных в результате ISSR-анализа, *T. suaveolens* указывают на то, что их диверсификация друг от друга происходила много ранее предполагаемого расселения степной растительности на территории Понто-Каспия. Поэтому особенности их филогеографического распределения связаны исключительно с расселением этих генетических групп в позднем плейстоцене, независимо от времени их гораздо более древнего расхождения друг от друга. Расселение, по-видимому, шло с различных сторон и с разной интенсивностью. В частности, со стороны Крымского п-ва, Северо-Западного и Северного Кавказа, а также со стороны Общего и Каменного Сыртов, т. е. с юга и северо-востока незатопляемой части ареала оно шло более активно. Гораздо менее интенсивно и эффективно этот процесс, вероятно, происходил со стороны северо-западной части ареала, не затоплявшейся акваторией Раннехвалынской трансгрессии Каспийского моря. Полученные данные позволяют оптимизировать мероприятия по сохранению генофонда *T. suaveolens in situ, ex situ, in vitro*.



Неупрощаемая сложность Нох-гена

М.А. Кулакова¹, Г.П. Маслаков¹, Л.О. Полюшкевич¹

¹ СПбГУ

neraisvi@gmail.com

Нох-гены кодируют гомеодоменные транскрипционные факторы и управляют дифференцировкой клеток в широких пространственных доменах вдоль передне-задней оси тела у большинства животных. Эти гены возникли примерно 700 млн лет назад у последнего общего предка многоклеточных, которые образовали кладу ParaНохозоа. В эту кладу входят пластинчатые (Placozoa), кишечнополостные и билатеральные животные. Название кледы указывает на эволюционную границу внутри Metazoa, которая обособляет таксоны с Нох/ParaНох-генами от гребневиков и губок, у которых эти генов нет.

Билатеральные животные доминируют по числу видов и морфологическому разнообразию. Именно в этой группе произошла стремительная структурная экспансия Нох-генов и формирование полно-размерных Нох-кластеров. Последний общий предок трёх ветвей Bilateria (Deuterostomia, Ecdysozoa и Spiralia) уже имел Нох-кластер по меньшей мере из семи генов.

Известно, что у современных животных Нох-гены колинеарно, то есть в прямом соответствии с позицией в кластере, экспрессируются вдоль основной оси эмбриона перед началом или во время гастрюляции. Это приводит к появлению последовательных клеточных территорий с разными наборами Нох-белков («Нох-код»). Разница между участками тела с разным «Нох-кодом» возникает из-за разницы в транскрипции генов-мишеней, подконтрольных Нох-белкам. Экспрессия Нох-генов концептуально сходна у любых сегментированных Bilateria, несмотря на существенные различия в механизмах её реализации, не все из которых эволюционно консервативны и до конца понятны.

Координированная во времени и пространстве ранняя векторная экспрессия Нох-кластеров выглядит очень сложной. Если она первична, то последний общий предок большинства билатеральных животных — сложное животное, не уступающее уровнем организации ланцетнику, дрозофиле или платинереису, что уводит нас к старому парадоксу о неупрощаемой сложности, известному со времён Дарвина, но теперь в масштабе молекулярных программ развития. Чтобы разрешить этот новый парадокс, нужно прибегнуть к старому методу — найти и изучить более простые системы, в которых заняты Нох-гены. Оказалось, что они могут регулировать общебиологические процессы, например, репарацию, клеточный цикл и аутофагию. Кроме того, у всех модельных билатеральных животных Нох-гены поддерживают терминальную специфичность нейронов, их транскрипты накапливаются в ооцитах, а белки могут секретироваться как паракринные сигнальные факторы. Важно, что неканонические функции Нох-генов реализуются за счёт базовых свойств гомеодоменного белка, а не эволюционных новшеств в его структуре. Регуляторная сложность осевой экспрессии Нох-генов возникла в результате кооперации между более древними морфогенетическими программами или их отдельными элементами. В докладе представлены возможные сценарии этих ранних событий, которые послужили триггером для беспрецедентной эволюционной радиации билатеральных животных.

Исследование выполнено за счёт средств Российского научного фонда (проект № 23-24-00426). Авторы выражают благодарность ЦКП «Хромас» за помощь в визуализации данных.



Филогенетические взаимоотношения малоизученных пшеницевых через призму хлоропластного генома

А.Р. Кулуев¹, Б.Р. Кулуев¹, А.В. Чемерис¹

¹ Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН

kuluev.azat91@yandex.ru

Филогенетические взаимоотношения среди многочисленных представителей родов *Aegilops* и *Triticum* остаются не до конца выясненными. Чтобы уточнить филогению того или иного вида можно использовать методы исследования их геномов, однако, ввиду дороговизны и трудоёмкости полногеномного секвенирования, для малоизученных представителей пшеницевых остается актуальным сравнение хлоропластных геномов, по результатам которого можно судить о родстве по материнской линии. Поэтому целью нашего исследования было секвенирование и аннотация полных хлоропластных геномов таких малоизученных видов, как *T. sinskajae* Filat. et Kurk., *T. boeoticum* Boiss., Ae., *aucheri* Boiss., *T. militinae* Zhuk. et Migusch. и *T. timonovum* Heslot et Ferrary и сравнение полученных нуклеотидных последовательностей с их ближайшими родственниками, хлоропластный геном которых уже секвенирован. Нами были впервые секвенированы 5 линий *Ae. aucheri* различного географического происхождения. Согласно литературным данным, *Ae. aucheri* считается подвидом *Ae. speltooides* Tausch. Сравнение хлоропластных геномов *Ae. aucheri* и *Ae. speltooides* показало, что эти эгилопсы отличаются друг от друга наличием различных инделов и замен. На филогенетическом древе 5 линий *Ae. aucheri* разделились согласно географическому происхождению и сформировали отдельный от *Ae. speltooides* кластер.

T. militinae считается голозерным мутантом *T. timopheevii* Zhuk. По полученным нами данным эти пшеницы сильно отличаются по хлоропластному геному, и пшеница Милитины оказалась более близка на филогенетическом древе к *T. aestivum* L. Хлоропластный геном другого изученного нами октаплоида *T. timonovum* оказался близок к *T. timopheevii* (AB976560.1), что неудивительно, ведь этот вид был получен искусственно при помощи колхидина из пшеницы Тимофеева.

Также мы впервые секвенировали хлоропластный геном диплоидной пшеницы *T. sinskajae*, которая считается голозерным мутантом *T. monococtum* L. Для изучения филогении этой однозернянки мы дополнительно секвенировали хлоропластный геном *T. boeoticum* и *T. monococtum* (к-20970, Турция), в образцах которого была найдена пшеница Синской. Хлоропластные геномы *T. monococtum* к-20970 и *T. sinskajae* отличались 10 нуклеотидами, которые включали 1 трансверсию, 1 делецию, 4 инсерции и инверсию AGAA на TTCT в межгенной области *rbcl-psal*. Сравнение хлоропластных геномов пшениц-однозернянок показало общее происхождение пластомов трех близкородственных видов — *T. sinskajae*, *T. monococtum* и *T. boeoticum*, тогда как *T. urartu* Thum. ex Gandil. оказалась немного дальше от них на филогенетическом древе.

Полученные данные способствуют выяснению сложных филогенетических отношений в пшенично-эгилопсном альянсе и могут быть использованы при планировании работ по созданию новых синтетических пшениц с хозяйственно-ценными признаками.



Запрограммированная элиминация ДНК у животных

Л.П. Малиновская¹

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

l.malinovskaia@alumni.nsu.ru

Запрограммированная элиминация ДНК обнаружена у многих многоклеточных животных от нематод до млекопитающих. В большинстве случаев потери генетического материала происходят в раннем эмбриогенезе в соматических клетках и не затрагивают клетки зародышевой линии. Данные о конкретных областях генома, которые подвергаются элиминации, ограничены и недоступны для большинства видов. Предполагается, что у разных видов элиминация ДНК выполняет разные функции, из которых главная — это дифференцировка эмбриональных стволовых клеток в клетки соматической и зародышевой линии.

Дополнительная хромосома, специфичная для клеток зародышевой линии (germline-restricted chromosome, далее GRC), которая была недавно обнаружена у всех исследованных птиц отряда Воробьинообразные, представляет собой интересный вариант запрограммированной элиминации ДНК. Эта хромосома отсутствует в соматических клетках и сперматозоидах и передается преимущественно по материнской линии.

Из цитогенетических данных следует, что GRC сильно варьирует в размере и генетическом содержании даже внутри отдельных семейств. На быструю эволюцию GRC также указывают результаты анализа данных секвенирования четырех видов: зебровой амадины (*Taeniopygia guttata*), обыкновенной лазоревки (*Cyanistes caeruleus*) и двух близких видов соловьев (*Luscinia megarhynchos* и *L. luscinia*). На GRC у всех четырех видов было найдено больше сотни генов, все из которых имели паралоги в соматическом геноме. Большинство найденных GRC-паралогов являлись видоспецифичными и пока не было обнаружено ни одного гена, который встречался бы у всех четырех видов.

Анализ экспрессии GRC-паралогов в яичниках у взрослых особей показал преимущественную экспрессию генов, участвующих в дифференцировке и развитие клеток зародышевой линии. Эти результаты, а также тот факт, что пока не было обнаружено ни одного мейоцита без GRC, позволяют предполагать, что эта хромосома является важным функциональным элементом в клетках зародышевой линии, а её элиминация может служить механизмом сайленсинга потенциальных онкогенов в соматических клетках.

Данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ (№ 23-14-00182).



Тандемные повторы ДНК растений как маркеры хромосомной изменчивости и эволюции

О.В. Муравенко¹

¹ *Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва*

omur@eimb.ru

Повторяющиеся последовательности ДНК, такие как кластеры рибосомных генов, мобильные генетические элементы и сателлитные ДНК, составляют основную часть репитома, который представляет собой наиболее значительную и изменчивую часть геномов высших растений. Тандемные повторы ДНК во многом являются основой структурной и функциональной организации генома, а также источником его изменчивости при адаптации и в процессе видообразования. Появление технологий FISH-картирования и NGS дало возможность на новом уровне изучать структурную хромосомную изменчивость как внутри видов, так и между ними, используя тандемные ДНК в качестве маркеров хромосом. Такие сведения стали существенным дополнением к таксономическим и филогенетическим исследованиям растений.

Широко используются рисунки локализации на хромосомах растений таких классических молекулярных маркеров, как кластеры 45S (или 35S рДНК или 18S и 26S рДНК) и 5S рДНК, которые в силу своей консервативности относят к синапоморфным признакам. FISH-картирование на хромосомах других повторяющихся последовательностей ДНК, в том числе микросателлитных повторов, открывает возможность не только значительно точнее провести идентификацию гомологов и отдельных хромосом по этим молекулярным маркерам, но и успешно выявить хромосомную изменчивость и хромосомные перестройки. Всесторонняя характеристика высшей формы компактизации генома — гаплоидного набора метафазных хромосом по рисункам локализации молекулярных маркеров (повторов разных классов) в кариотипах растений позволяет уточнять размах их внутривидовой изменчивости, устанавливать геномные различия у растений из популяций, произрастающих в разных эколого-географических условиях, подтверждать гибридность и полиплоидию как у близкородственных, так и у отдаленных таксонов растений, определять направление хромосомной эволюции.

Интеграция морфологических, цитогенетических и геномных данных в наших исследованиях дала возможность изучить детальную структуру кариотипов, определить пloidный статус и выявить внутри- и межвидовую хромосомную изменчивость у близко и отдаленно родственных видов из различных семейств (злаки, бобовые, сложноцветные, яснотковые) и установить изменения родственных геномов в процессе их дивергенции.



Молекулярная domestикация генов ретротранспозонов

Л. Н. Нefeldова¹, М. Л. Никитина¹, И. В. Кукушкина¹, А. И. Ким¹

¹ МГУ имени М. В. Ломоносова, Москва

lidia_nefedova@mail.ru

Мобильные элементы играют значительную роль во многих биологических процессах разного масштаба — от мелких перестроек до реорганизации генома и по праву считаются одним из важнейших двигателей эволюции. Помимо этого, мобильные элементы являются источником регуляторных последовательностей и новых генов, возникающих в результате эволюционного процесса, который принято называть молекулярной domestикацией. Молекулярная domestикация ретротранспозонов, по-видимому, сыграла ключевую роль в образовании новых семейств генов у эукариот. Достаточно отметить, что геномы млекопитающих содержат несколько семейств генов ретровирусного/ретротранспозонного происхождения (*PNMA*, *Mart* и синцитины), члены которых принимают участие в формировании плаценты и в эмбриогенезе. Одним из наиболее ярких примеров domestикации ретротранспозонов у дрозофилы является их вовлечение в удлинение теломера, которое осуществляется исключительно с помощью ретротранспозонов *HeT-A* и *TART*.

Случаи молекулярной domestикации ретротранспозонов с длинными концевыми повторами и их последовательностей у беспозвоночных изучены значительно слабее, чем у позвоночных. Показано, что в геноме *Drosophila melanogaster* в результате молекулярной domestикации гена *gag*, кодирующего белки капсида ДКП-ретротранспозона группы *gypsy*, сформировался ген *Gagr* — предмет нашего исследования. В ходе эволюции структура этого гена поддерживалась стабилизирующим отбором. Однако, в отличие от *gag*, белок *Gagr* приобрел трансмембранный домен и «заякорился» в мембране ЭПР.

Одним из основных методов изучения функции гена является инактивация его функции. В настоящей работе мы показали, что снижение функции гена *Gagr* за счет нокдауна не влияет на жизнеспособность мух в стандартных условиях культивирования. Однако в условиях стресса, вызванного персульфатом аммония, мощным индуктором ЭПР- и окислительного стресса, продолжительность жизни мух с нокдауном гена *Gagr* значительно снижается. Мы показали, что ген *Gagr* транскрибируется на самом высоком уровне в тканях кишечника относительно других тканей, и его транскрипция наиболее эффективно индуцируется у самок в ответ персульфат аммония, добавляемого в корм. В ходе работы был изучен транскриптом кишечника самок с нокдауном гена *Gagr* во всех тканях в стандартных условиях и в условиях стресса, вызванного персульфатом аммония. Выявлено, что у самок с нокдауном гена *Gagr* в кишечнике активированы гены антимикробных пептидов, контролируемых сигнальными путями Toll и Imd. Индукция стрессового ответа персульфатом аммония выявила нарушение работы сигнальных путей Jak-STAT и Jnk/MAPK и практически полное отсутствие активации работы путей ответа на ЭПР-стресс у мух с нокдауном гена *Gagr*. Полученные данные подтверждают важную роль гена *Gagr* в поддержании гомеостаза организма, в иммунном ответе организма и в продолжительности жизни дрозофилы. Таким образом расширяются представления о степени вовлеченности domestцированных генов мобильных элементов в клеточные процессы у эукариот.



Desulforudis audaxviator — «живое ископаемое» из глубинной подземной биосферы

В.В. Кадников¹, А.В. Марданов¹, О.В. Карначук², Н.В. Равин¹

¹ Институт биоинженерии, ФИЦ Биотехнологии РАН

² Томский государственный университет

nravin@mail.ru

Текущие представления об эволюции микроорганизмов большей частью основаны на результатах исследований в области сравнительной геномики и экспериментальной эволюции, объектами которых являлось небольшое число быстро размножающихся видов. Однако такие микроорганизмы могут быть неадекватными моделями для многих бактерий и архей, которые имеют очень разные жизненные стратегии, влияющие на скорость их эволюции. Изолированные от поверхности Земли глубинные подземные экосистемы содержат значительную долю еще не охарактеризованного микробного биоразнообразия, так называемой «микробной темной материи». Фирмикот *Candidatus Desulforudis audaxviator* MP104C стал одним из модельных микроорганизмов глубинной подземной биосферы. Первоначально эта бактерия была обнаружена в водах золотодобывающей шахты в Южной Африке на глубине 2.8 км, где она была единственным микроорганизмом. Анализ генома этой бактерии, полученного в результате секвенирования метагенома, показал, что *Ca. Desulforudis audaxviator* может расти хемолитоавтотрофно и полностью автономно от поверхности, фиксируя углерод по пути Вуда-Льонгдаля, окисляя образуемый в результате радиолиза воды водород и восстанавливая сульфат. Помимо шахты в ЮАР, *Ca. Desulforudis audaxviator* был обнаружен по генам 16S рРНК только в нескольких подземных местобитаниях на разных континентах.

Мы исследовали микробное сообщество глубинных термальных вод, залегающих на глубинах 2–3 км в мезозойских осадочных породах Западно-Сибирского региона. В результате метагеномного анализа в сообществе был обнаружен *Ca. Desulforudis audaxviator* и определен его полный геном. Идентичность нуклеотидных последовательностей геномов Сибирского и Южноафриканского штаммов *Ca. Desulforudis audaxviator* составляла свыше 99.9%. Последующий анализ геномов 126 единичных клеток *Ca. Desulforudis audaxviator* из глубинных подземных экосистем в Западной Сибири, Южной Африке и Северной Америки, а также культивированного изолята ‘*Desulforudis audaxviator*’ BYF из Западной Сибири, выявил высокую степень консервативности геномов, проявляющуюся в высоком сходстве нуклеотидных последовательностей (выше 99.5%), причем оно не зависело от географического расстояния между точками отбора. Столь высокое сходство между геномами *Ca. Desulforudis audaxviator* является неожиданным, поскольку три континента, в глубинных местобитаниях которых он был обнаружен, разошлись более 100 миллионов лет назад, а физико-химические условия экологических ниш и их микробные сообщества значительно отличаются. ‘*Desulforudis audaxviator*’ является «живым ископаемым» и представляет яркий контраст с модельными организмами, используемыми в исследованиях микробной эволюции, которые развивают адаптивные черты в течение коротких периодов времени.

Работа поддержана Российским научным фондом (проекты 19-14-00245 и 22-14-00178).



Полиплоидизация и локус-специфичные дубликации генов и вторичная диплоидизация кариотипов — изменения геномов и кариотипов на путях видообразования и прогрессивной эволюции растений

А. В. Родионов¹

¹ Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН

avrodionov@mail.ru

Межвидовая гибридизация, сопровождающаяся полиплоидизацией генома — это быстрый способ видообразования у растений. Так возникли десятки тысяч видов современных растений. Удачные сочетания аллелей разных субгеномов, характерные для полиплоидов относительно крупные размеры, возможный переход к неполному размножению способствуют успешному освоению полиплоидами новых ареалов, адаптации к экстремальным условиям существования, но не к обретению новых ароморфозов — это видообразование, но видообразование на уже освоенном уровне эволюционной сложности, шаг, не ведущий сам по себе к прогрессивной эволюции.

Естественным следствием полиплоидизации генома является кратное увеличение числа хромосом в кариотипе. Однако анализ кариотипов предков-основателей таксонов надродового уровня (семейств и выше) показывает, что, как правило, виды-основатели этих ветвей имели малохромосомные геномы. В геноме общего предка двудольных растений было 7 хромосом, у предка однодольных 5 хромосом, у предка злаков 7 хромосом (Murat et al., 2017). Вряд ли это случайно. Появление малохромосомных видов в потомстве полиплоидов достигается путем утраты части хромосом (диспloidии) и так называемого «фракционирования» геномов. В этом случае полиплоид постепенно освобождается от большей части дублицированных копий генов, число хромосом в геноме вследствие транслокаций уменьшается. Какие гены будут утрачены в ходе фракционирования генома, а какие сохранят дублицированные копии, зависит от того, каким образом возникли в геноме копии того или иного протеин-кодирующего гена. Для генов, дублицированных в результате WGD, действует правило: гены, продукты которых работают в составе гетеропротеиновых комплексов, сохраняются, гены гомопротеиновых комплексов и гены, следующие правилу «один ген — один фермент», предпочитают моногенное существование. Напротив, если дублицированные копии появились в геноме в результате докус-специфичной дубликации, то налицо тенденция утраты избыточных копии генов.

У гибридогенного вида, вставшего на путь стохастического фракционирования генома и диспloidии, первоначально возникшая в результате WGD генетическая избыточность разных компонентов генома трансформируется своеобразно, что приводит к радикальному увеличению внутривидового геномного и эпигенетического полиморфизма и дает богатый материал для естественного отбора. Эволюционная геномика показывает, что именно особи с такими вторично диплоидизированными геномами и кариотипами в какой-то момент приобретают и передают потомству комплекс генов и фенотипических особенностей, достаточный для того, чтобы опытные систематики считали эту группу видов особым семейством.

И, наконец, о роли локус-специфичных мультипликаций генов в эволюции. Она состоит в геномном гомеостазе — способности генома поддерживать оптимальное для вида в данных конкретных условиях число копий (паралогов) виталей — необходимых для жизни генов. Ярким примером такого ответа являются мультипликация в 40–100 раз числа копий гена EPSPS в геномах *Amaranthus palmeri*, обработанных глифосфатом, который должен убивать растение, подавляя синтез продукта этого гена — фермента 5-еноилпирувил-шкимаат-3-фосфат-синтазы (EPSPS) (Коо et al., 2018). Причем у растений благоприобретенное таким образом изменение генома передается в ряду поколений, в том числе, половых. Ну и, конечно, мультипликация генов — это шанс для появления нео-генов.

Работа выполнена на средства гранта РФФ 24-24-00326.



Влияние эволюции лесов Востока Азии на филогеографию рода *Takydromus*

И.Н. Шереметьева¹, А.А. Попова¹

¹ Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии Дальневосточного отделения
Российской академии наук, Владивосток, 690022 Россия

sheremet76@yandex.ru

Несмотря на то, что восточная часть Азии, в отличие от севера Европы и Америки, не была покрыта ледниковыми щитами и имела относительно мягкий климат в течение последнего ледникового периода (Ju et al. 2007), изменения окружающей среды, прежде всего аридизация (Guo et al., 2004), приводящая к деградации лесов (Ren, Beug, 2002), и уровня морового океана, связанные с ледниково-межледниковыми циклами (Watanabe et al., 2023), оказали существенное влияние на распространение видов на данной территории.

Азиатские травяные ящерицы рода *Takydromus* (Lacertidae) Daudin 1802 — это широко распространенная группа на востоке и юго-востоке Азии, в настоящее время насчитывающая 24 вида. Почти половина видов являются эндемиками островов, расположенных вдоль тихоокеанского побережья. Показано что, температура и влажность являются ключевыми факторами определяющими распространение видов рода. Представители рода в основном являются обитателями открытых пространств, однако некоторые виды заселяют лесные биотопы. Цель работы было оценить влияние эволюции лесов Востока Азии на филогеографию рода *Takydromus*. Используя гомологичные участки гена цитохром *b* (cyt b) мтДНК для 18 видов азиатских травяных ящериц из GenBank/NCBI, мы построили сеть гаплотипов для рода. В результате нам удалось разбить виды на 2 группы согласно их экологической приуроченности: лесные и луговые. В качестве базальной группы на сети оказался *Takydromus septentrionalis*, вид из центрального Китая для которого характерен не только обширный ареал, но и обитание в различной среде. Показана сопряженность филогеографической картины рода *Takydromus* с эволюцией лесов Востока Азии. Предложена гипотеза заселения острова архипелага Рюкю лесными видами азиатских травяных ящериц.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-24-00158, <https://rscf.ru/project/24-24-00158/>



Рекомбинация как источник разнообразия токсинов Cry и расширения спектра поражаемых хозяев

А.Е. Шиков^{1 2}, А.А. Нижников^{1 2}, К.С. Антонец^{1 2}

¹ Лаборатория протеомики надорганизменных систем, ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Россия, Санкт-Петербург

² Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, Санкт-Петербург
a.shikov@arriam.ru

Трёхдоменные токсины Cry, продуцируемые бактерией *Bacillus thuringiensis*, являются основными биологическими агентами контроля вредителей, применяемыми в земледелии. Тем не менее развитие резистентности у вредоносных насекомых приводит к необходимости разработки новых эффективных биопрепаратов. С этой целью необходимо глубокое понимание механизмов эволюции токсинов Cry. В настоящее время принята гипотеза о том, что новые формы токсинов возникают путём обмена третьим доменом, однако биологические механизмы, контролирующие эти обмены, являются малоизученными. С целью выявления механизмов образования новых токсинов и их функционального влияния нами было проведено масштабное исследование доступного природного разнообразия токсинов Cry. С помощью биоинформатических методов было выявлено 50 событий рекомбинации, причём в них были задействованы все три домена. Посредством реконструкции графа обменов было показано, что события рекомбинации происходили в ходе эволюции множество раз, и многие из токсинов являются одновременно родителями и потомками. При этом более 70% локусов cry, присутствующих в геномах известных штаммов, представляют собой участников процесса рекомбинации. После обмена доменами происходит значимая смена специфичности вплоть до изменения отряда поражаемых хозяев. Чем больше отличается спектр поражаемых хозяев у родителей и образованных химерных токсинов, тем сильнее давление стабилизирующего отбора, свидетельствуя о том, что приобретение новых доменов является эволюционно выгодным событием. Важно отметить, что среди изолятов *B. thuringiensis* выявлены группы штаммов с высокой частотой обменов. Данные штаммы возникают при контакте между более популяциями-специалистами, обретая способность поражать большее число видов хозяев. Локусы cry характеризуются консервативными участками на границах доменов, а также инсерциям, фланкирующие данные последовательности. Это наблюдение указывает на то, что инсерции и консервативные блоки определяют точки разрыва во время рекомбинации, обеспечивая обмен целыми доменами. Таким образом, нами впервые показано, что рекомбинация является основным механизмом эволюции токсинов Cry, приводя к расширению спектра поражаемых хозяев, что даёт возможность штаммам *B. thuringiensis* занимать новые экологические ниши.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 24-16-00284.



Первые итоги филогеномных исследований эволюции байкальских букетов ВИДОВ

Д.Ю. Щербаков¹

¹ Лимнологический институт СО РАН

sherb@lin.irk.ru

Молекулярно-филогенетические исследования байкальских беспозвоночных насчитывают более тридцати лет, за это время были в целом охарактеризованы эволюционные истории как ряда наиболее богатых видами групп организмов, так и нескольких групп, не давших яркой адаптивной радиации. Оказалось, что 1) за небольшим исключением, основными механизмами видообразования были симпатрическое и парapatрическое; 2) большинство таксономически богатых групп относительно молоды, однако в Байкале есть и таксономически сверхразнообразные группы, самой яркой из которых являются амфиподы, возраст которых равен возрасту крупных озер на месте современного Байкала. Интересной особенностью является отсутствие примеров совместной эволюции членов одних и тех же сообществ организмов.

Новый этап с появлением методов секвенирования следующего поколения. С учетом возможности получения сведений о полных геномах исследуемых организмов, внимание исследователей, наряду с уточнением филогенетических выводов, полученных ранее, сместилось на поиск молекулярных событий, маркирующих процессы адаптации к условиям среды. Стало возможно значительно более подробно исследовать преобразования геномов в процессе адаптивной видовой радиации.

Результаты первых полногеномных исследований байкальских амфипод состояли в расшифровке десятка полных митохондриальных геномов Романовой с соавт. в 2016 и получение транскриптомов гораздо большего числа видов Науменко с соавт. в 2017. В обеих работах подтверждены основные черты эволюционной истории этой группы. Исследование митохондриальных геномов позволило к тому же зарегистрировать многочисленные случаи изменения порядка генов, а также обнаружить несколько случаев ремодинга тРНК, когда мутация в антикодоне приводит к изменению аминокислоты, которая включается в соответствующие положения в белках.

Исследования транскриптомов привело к выявлению многочисленных случаев адаптации на молекулярном уровне и к неожиданно низкому разрешению филогенетического анализа в базальной части дерева.

Исследования митохондриальных геномов в других группах байкальских организмов, в частности, у моллюсков Baicaliidae и губок, не позволили обнаружить явления сравнимого с амфиподами масштаба, что, по-видимому объясняется относительной молодостью этих групп в Байкале, однако дали интересную информацию о координированных изменениях скорости молекулярной эволюции групп митохондриальных генов в процессе видообразования, последовавшем вслед за вселением предков современных видов в Байкал.

Исследование средних повторов ядерной ДНК у амфипод и моллюсков показало, в частности, наличие существенной фракции повторов, общих для нескольких видов но распространение которых не соответствует филогении, построенной по последовательностям митохондриальных геномов. Существование таких повторов и у амфипод и у моллюсков может указывать на их потенциальную роль в горизонтальном переносе генов.

Первые исследования генетических механизмов адаптации были проведены еще в середине 90-х годов 20 века Баумейкером, Хантом и др, в результате которых были обнаружены механизмы быстрой адаптации байкальских эндемичных бычков к обитанию на больших глубинах — потеря генов и голубой сдвиг чувствительности родопсина. Эти работы опередили свое время, однако были продолжены в последние несколько лет главным образом усилиями ученых Института Биологии ИГУ уже с применением технологий НГС на эндемичных амфиподах. Эти работы выявили интересные и во многом неожиданные пути эволюции опсинов в процессе дифференциации амфипод в соответствии с экологическими нишами.

Симпозиум 8: Структурная и функциональная протеомика
Symposium 8: Structural and Functional Proteomics



Мультиомиксные исследования немодельных организмов: что может пойти не так

О.А. Гусев¹

¹ К(П)ФУ, РФ; Juntendo University, Japan
extreme.biology.lab@gmail.com

Использование уникальных биоресурсов в исследованиях является одной из выгодных стратегий достижения научного лидерства. С развитием высокопроизводительных омиксных технологий стало значительно проще получать большие объемы данных, отражающие структуру геномов, полногеномный профиль транскрипционной и трансляционной активности. В то же время новые модели для исследований несут в себе определенные риски, в том числе связанные с отсутствием референсных геномов, хорошо охарактеризованных моделей генов, что значительно затрудняет использования широкого инструментария международных баз данных. На примере наших исследований ангидробиоза хирономид, регенерации в иглистых мышцах и других «экстремально-биологических» исследований я расскажу, с какими сложностями сопряжены омиксные исследования немодельных организмов и какими подходами мы пользуемся, чтобы их преодолеть.



Внеклеточные везикулы как источник диагностических маркеров

В. Г. Згода¹, Н.А. Соловьева¹, С.Е. Новикова¹, Т.Е. Фарафонова¹, О.В. Тихонова¹

¹ НИИ биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, Москва

victor.zgoda@gmail.com

Внеклеточные везикулы (ВнВ) опухолевого происхождения, включая экзосомы, нагружены белками, которые являются «зеркальным отражением» протеома клетки-продуцента. ВнВ обнаруживаются в различных биологических жидкостях, в том числе в плазме крови. Исследование белкового состава ВнВ представляет большой интерес для поиска новых диагностических, предиктивных и прогностических маркеров. Колоректальный рак (КРР) и рак легких (РЛ) лидируют по распространенности и смертности в мире. Используя клеточные линии РЛ и КРР в качестве модели, мы выполнили масс-спектрометрическое профилирование без использования стабильных изотопных меток для 850 белков ВнВ. На основании этих данных была разработана методика мониторинга выбранных реакций с использованием стабильных изотопно-меченых пептидных стандартов (SRM/SIS) для 36 протеотипических пептидов, картируемых на 28 ВнВ-ассоциированных белков, в том числе и на общепринятые маркеры ВнВ (CD82, CD81, CD9, CD63 и HSPA8). По результатам SRM/SIS анализа в плазме крови, полученной от 34 пациентов с РЛ и от 23 здоровых добровольцев, были обнаружены 7 белков (FN1, HSPA8, TLN1, ITGB3, TUBA4A, PACSIN2 и TSG101), содержание которых различалось в образцах плазмы крови больных РЛ и здоровых людей. Анализ SRM/SIS, осуществленный в образцах ВнВ, выделенных из плазмы крови, полученной от 11 пациентов с КРР и от 20 здоровых добровольцев, позволил определить 10 белков FN1, TLN1, ITGB3, HSPA8, TUBA4A, CD9, CD63, HSPG2, ITGB1 и GNAI2, позволяющих отличить образцы больных с КРР от здорового контроля. Полученные результаты указывают на значимость протеомного груза ВнВ как источника потенциальных биомаркеров. В дальнейшем планируется расширение SRM/SIS панели для повышения специфичности, а также валидация на больших когортах пациентов.

Масс-спектрометрический анализ и хранение данных проводили на оборудовании Центра «Протеом человека» (ИБМХ).

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 21-74-20122.



Изучение молекулярных механизмов ферроптоза в нейродегенерациях по масс-спектрометрическим данным антаргетного протеома

О.М. Кудряшова¹, М.В. Баранникова², В.К. Сулягин³, В.С. Ледяева³,
Д.А. Корженевский⁴, А.Г. Шохина¹

¹ Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА России, РНИМУ им. Н.И. Пирогова

² Московский физико-технический институт

³ РНИМУ им. Н.И. Пирогова

⁴ Федеральный центр мозга и нейротехнологий ФМБА России

olga.kudryashova179@gmail.com

Ферроптоз — вид не апоптотической клеточной смерти, описанный как один из основных механизмов гибели клеток при нейродегенеративных заболеваниях и связанный с окислением липидов. Поэтому долгое время при изучении ферроптоза основное внимание уделялось липидному профилю. Анализ протеомных данных может выявить ранее не обнаруженные пути и привести к формулировке новых гипотез о физиологической роли ферроптоза и поиску новых белков, участвующих в ферроптоз-опосредованных механизмах.

В данной работе методами антаргетной tandemной масс-спектрометрии определялся протеом раннего и позднего ответа при индукции ферроптоза, запускаемого воздействием на разные компоненты антиоксидантных систем. Так, использовались следующие подходы для моделирования ферроптоза: химические агенты: эрастин — специфически ингибирующий антипортер системы хс-; ML210 — ингибитор GPX4 и BSO — блокатор синтеза глутатиона de-novo. Дополнительно был проведен анализ РНК секвенирования образцов в тех же экспериментальных точках.

Анализ дифференциальной экспрессии проводился для данных протеома после биоинформатической обработки (интенсивность определялась программой IonQuant по метрике maxLFQ). В результате были выявлены белки, участвующие в раннем и позднем ответе при различных механизмах индукции ферроптоза. Интересно, что было выявлено 4 общих белка между химическими индукциями ферроптоза, которые значимо увеличились при раннем ответе, включая белок глутатиона S-трансферазы Р и белок гемоксигеназа-1. Анализ геной онтологии выявил, например, увеличение белков оксидоредуктазной системы и трансмембранный транспорт при индукции Эрастином и ML210, причем на позднем ответе количество белков, отвечающих за активацию этих путей, увеличилось. Анализ профиля экспрессии генов данных белков подтвердил увеличение и на уровне транскриптов. Анализ активности транскрипционных факторов также показал активность схожих программ на уровне белков и транскриптома. При этом при воздействии на цистеин/глутатионовую ось отличались от программ, активирующихся при воздействии на GPX4. Насколько нам известно, это первое комплексное экспериментальное исследование, в котором проводилось антаргетное измерение протеома методами ЖХ-МС/МС совместно с профилированием РНК при раннем и позднем ответе на индукцию ферроптоза, воздействуя на разные элементы антиоксидантных систем. Наблюдаемые сходства и различия клеточного ответа могут помочь в поиске потенциальных биомаркеров и понимании механизмов патогенеза нейродегенеративных заболеваний.



Компьютерная оценка структурных и функциональных свойств белков на основе их структурных формул

А.А. Лагунин^{1 2}

¹ Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет им. Н.И. Пирогова, Москва

² Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, Москва

aalagunin@yandex.ru

Анализ структурных и функциональных свойств белков является одной из важнейших задач протеомики. Несмотря на активное исследование в этой области, огромное количество белков разных организмов нуждаются в оценках этих свойств для понимания их роли в различных биологических процессах. Экспериментальные методы ограничены в своих возможностях из-за сложности, стоимости и продолжительности таких исследований. В настоящее время накоплено много экспериментальных данных, как о вторичных и третичных структурах белков, так и различных функциональных свойств белков, которые позволяют выявлять связанные с ними зависимости особенностей аминокислотных (а.к.) последовательностей. Начиная с середины 20-го века, для этого используют а.к. последовательности, описанные в виде однобуквенного кода. И это является основой большинства современных методов биоинформатики, с помощью которых можно эффективно оценивать свойства белков. Несмотря на значительные успехи в создании таких методов, само представление а.к. последовательностей в виде однобуквенного кода является ограничением для дальнейшего совершенствования биоинформатических методов, так как не отражает особенностей структуры белков на уровне связей между атомами. С другой стороны, развитие экспериментальных методов определения 3D структур белков позволяет описывать атомы белковых молекул в трехмерном пространстве. Такое описание позволяет оценивать характеристики и свойства белков намного качественней, но требует применения значительных вычислительных ресурсов, а также ограничено количеством известных трехмерных структур. Большой шаг был сделан проектом AlphaFold, который с высокой точностью смоделировал 3D структуры для более 200 млн белков. Но использование таких данных также ограничено: 1) далеко не все модели выполнены с высокой точностью на протяжении всей последовательности белков; 2) выявлять зависимости в трехмерных структурах значительно сложнее как с точки зрения создания алгоритмов, так и требований к вычислительным ресурсам. Наши исследования предлагают альтернативу представления а.к. последовательностей белков в виде структурных формул их фрагментов, что позволяет использовать разработанные ранее в хемоинформатике методы выявления связей «структура – свойство». Эффективность такого подхода нами продемонстрирована в методах по прогнозу: патогенных аминокислотных замен (<https://www.way2drug.com/SAV-Pred/>) [1], специфичности Т-клеточных рецепторов к эпитопам (<https://www.way2drug.com/TCR-Pred/>) [2] и пост-трансляционных модификаций [3]. В докладе будут продемонстрировано использование нашего подхода для предсказания вторичных структур и функциональных мотивов белков.

- [1] Zadorozhny A. D., Rudik A. V., Filimonov D. A., Lagunin A. A. (2023) SAV-Pred: A Freely Available Web Application for the Prediction of Pathogenic Amino Acid Substitutions for Monogenic Hereditary Diseases Studied in Newborn Screening. *Int. J. Mol. Sci.*, **24**, 2463. DOI: 10.3390/ijms24032463.
- [2] Smirnov A. S., Rudik A. V., Filimonov D. A., Lagunin A. A. (2023) TCR-Pred: A new web-application for prediction of epitope and MHC specificity for CDR3 TCR sequences using molecular fragment descriptors. *Immunology*, **169**(4), 447–453. DOI: 10.1111/imm.13641.
- [3] Карасев Д. А., Савосина П. И., Соболев Б. Н., Филимонов Д. А., Лагунин А. А. (2017) Использование молекулярных дескрипторов для распознавания сайтов фосфорилирования в аминокислотных последовательностях // *Биомедицинская химия*, **63**(5), 423–427. DOI: 10.18097/PBMC20176305423.



Прогнозирование N-ε-ацетилирования лизина белков человека на основе подструктурных дескрипторов молекулярных фрагментов

Н.В. Лебедев¹, Д.А. Филимонов², А.А. Лагунин¹

¹ *Российский Национальный Исследовательский Медицинский Университет им. Н.И. Пирогова, г. Москва.*

² *Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, г. Москва*

nikolay.lebedev.bit@gmail.com

Масс-спектрометрия является основным методом определения сайтов пост-трансляционных модификаций белка, в частности, N-ε-ацетилирования лизина. Из-за высокой стоимости и технической сложности метода при планировании дизайна эксперимента используются классификационные модели, которые позволяют получить список потенциальных модификаций белка, что оказывается полезным, если:

- 1) в ходе эксперимента планируется использование протеотипических пептидов,
- 2) интерпретация масс-спектра неоднозначна,
- 3) при использовании методов восходящей протеомики нужно выбрать оптимальную стратегию протеолиза.

Целью исследования являлось создание моделей связи «структура-свойство» для прогнозирования сайтов N-ε-ацетилирования белков человека на основе химической структуры пептидов, описанной с помощью дескрипторов многоуровневых атомных окрестностей (Multilevel Neighborhoods of Atoms, MNA).

В базе данных PhosphoSitePlus было выявлено 22812 сайтов N-ε-ацетилирования из 7253 белков человека. На основе полученных данных были сгенерированы пептиды длиной от 3 до 35 аминокислотных остатков (АО). Пептиды, сохраненные в символьном виде, были переведены в формат MOL V3000, содержащий информацию о структурной формуле, и записаны в Structure-Data (SD) файл. Для построения классификационных моделей использовалась программа MultiPASS [1], которая формировала неповторное множество дескрипторов MNA от 2 до 9 уровня для каждого пептидного сайта, записанного в SD файле. С помощью пятикратной кросс-валидации была проведена настройка гиперпараметров: длины пептида и уровня дескриптора MNA. Наилучшая модель была получена при длине пептида 35 АО и уровне дескрипторов MNA 9 (чувствительность = 71%, специфичность = 74%, положительная прогностическая значимость = 18%, AUC = 0,82). Результат прогноза представлен в виде вероятностной оценки наличия или отсутствия ацетилирования в определенном сайте.

Оптимальный порог разделения классов равен 0,7.

Затем был проведен скрининг потенциальных сайтов Nε-ацетилирования в 13587 белках протеома человека (UP000005640), которые не были представлены в PhosphoSitePlus. В результате было обнаружено и проаннотировано 1136 потенциальных сайтов N-ε-ацетилирования лизина в 418 белках человека. С помощью pLogo было получено лого сайта N-ε-ацетилирования лизина и систематизирована информация о фермент-субстратных отношениях лизин-ацетилтрансфераз.

Предложенный метод способен хорошо распознавать структуры сайтов N-ε-ацетилированию лизина, поэтому он может найти применение в задаче подбора протеотипических пептидов. Выявленные с высокой вероятностью сайты ацетилирования могут являться предметом экспериментального исследования.

[1]] Zadorozhny A., Smirnov A., Filimonov D. and Lagunin A. (2023) Prediction of pathogenic single amino acid substitutions using molecular fragment descriptors. *Bioinformatics*, **39** (8), btad484. DOI: 10.1093/bioinformatics/btad484



Протеомика индуцированной гранулоцитарной дифференцировки лейкозных клеток для поиска новых белков-регуляторов

С.Е. Новикова¹, Т.В. Толстова¹, Л.К. Курбатов¹, Т.Е. Фарафонова¹, О.В. Тихонова¹, Н.А. Соловьева¹,
А.Л. Русанов¹, В.Г. Згода¹

¹ НИИ биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, Москва

novikova.s.e3101@gmail.com

Лейкозные клетки, обработанные полностью-*транс*-ретиноевой кислотой (АТРА), служат эффективной моделью для исследования молекулярных механизмов, лежащих в основе индуцированной гранулоцитарной дифференцировки. Мы применили масс-спектрометрический метод в комбинации с биоинформатическим предсказанием для поиска потенциальных регуляторных молекул, а также для профилирования ядерного протеома и оценки динамики протеоформ. Мы получили модельную схему АТРА-индуцированной гранулоцитарной дифференцировки на основе транскриптома и протеома, ключевой молекулой которой являлась поли (АДФ-рибоза)-полимераза 1 (PARP1), вовлеченная в репарацию ДНК. В ядерной фракции клеток линии HL-60 был идентифицирован 231 белок, обладающий активностью транскрипционных факторов (ТФ). Эти белки задействованы в репарации ДНК, регуляции сигнальных путей RUNX1 и p53. При этом содержание шести ТФ (RREB1, SRCAP, CCDC124, TRIM24, BRD7 и BUD31) было снижено, а содержание трех ТФ (EWSR1, ENO1 и FUS), напротив, повышено в ранние временные точки (3–12 ч) после обработки АТРА. С применением мониторинга выбранных реакций с использованием стабильных изотопно-меченых пептидных стандартов (SRM/SIS) было показано устойчивое увеличение содержания белка PRAM1, ТФ CEPBP, ТФ RBPJ и ТФ NIC1 в ответ на обработку АТРА. В то же время для ТФ STAT1 и белков CASP3, PARP1 и PRKDC наблюдалось транзиторное увеличение содержания в ядре только в ранние временные точки (3–12 ч) после обработки АТРА. Кроме того, белковый продукт гена *SOWAHD* был определен как потенциальный новый регулятор гранулоцитарной дифференцировки. Для биологической валидации с помощью технологии CRISPR/Cas9 была получена линия HL-60 с нокаутом гена *SOWAHD*. Качественные и количественные протеомные данные могут быть полезными для разработки новых подходов к лечению лейкозов.

Масс-спектрометрический анализ и хранение данных проводили на оборудовании Центра «Протеом человека» (ИБМХ).

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 21-74-20122.

Анализ масс-спектрометрических данных с использованием моделей глубокого обучения

Д.В. Петровский¹, К.С. Никольский¹, Л.И. Куликова¹, В.Р. Руднев¹, А.Л. Кайшева¹

¹ Институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича, Москва, Россия

petro2017@mail.ru

Работа посвящена разработке ансамбля моделей искусственного интеллекта для анализа результатов масс-спектрометрических измерений и идентификации пептидов и белков.

На рисунке 1 отображена схема рассматриваемого решения.

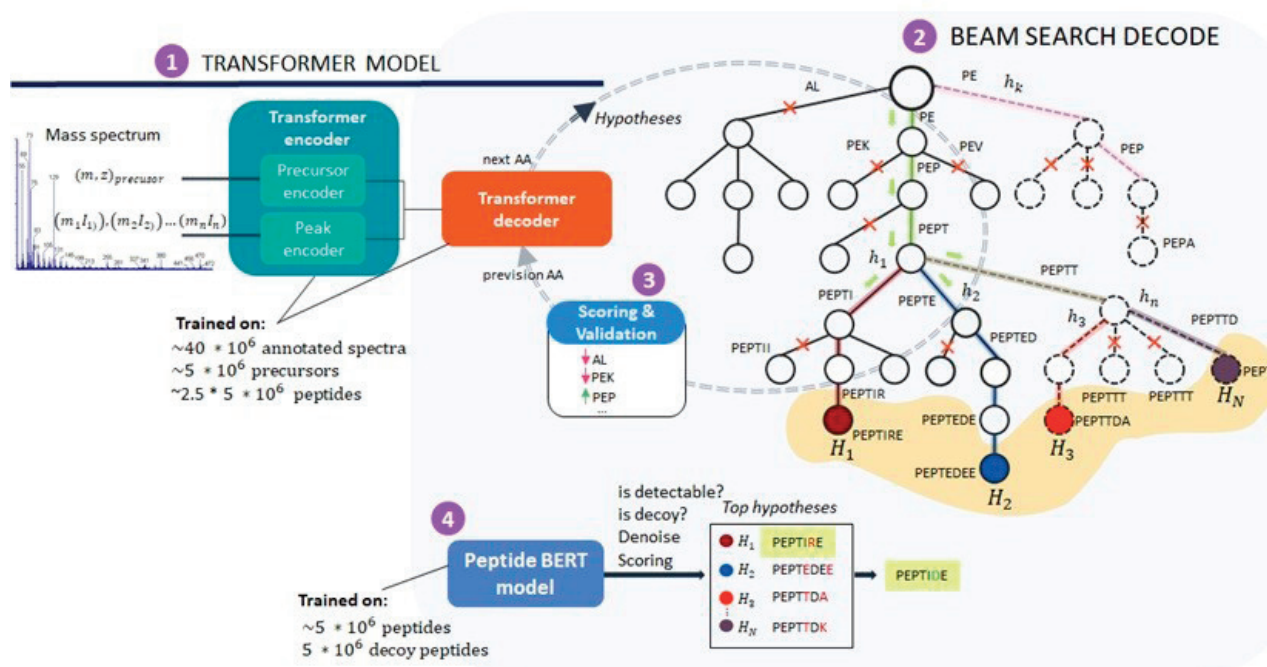


Рисунок 1. Схема работы модели искусственного интеллекта для идентификации пептидов в тандемной масс-спектрометрии. 1) Блок нейронной сети трансформера состоит из модуля кодировки масс-спектрометрических данных (Encoder) и блока декодирования в аминокислотную последовательность пептида. 2) Эвристический алгоритм «поиск луча» (beam search) с интегрированным модулем второй нейронной сети BERT (Bidirectional Encoder Representations from Transformers)

Модель была обучена на большом объеме аннотированных масс-спектрометрических данных, полученных в протеомных исследованиях и доступных в базах знаний Massive-KB, GPMDB и Peptide Atlas. В работе описывается проблематика, приводятся обоснование выбора архитектуры сети и результаты сравнительного анализа решения с другими распространенными пакетами программного обеспечения на эталонных наборах данных. Для обучения моделей были использованы вычислительные ресурсы МСЦ РАН (филиал ФГУ ФНЦ НИИСИ РАН).

1. Yang, H., Chi, H., Zeng, W., Zhou, W. & He, S. pNovo 3: precise de novo peptide sequencing using a learning-to-rank framework. *Bioinformatics* **35**, i83-i90 (2019).

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных исследований Российской Федерации на долгосрочный период 2021–2030 гг. (№122092200056–9).



Поиск и анализ новых амилоидогенных белков в протеоме человека

А.А. Рубель¹, Ю.В. Андрейчук¹, А.А. Зелинский¹, М.В. Рябина¹, А.Ю. Аксёнова¹, А.Е. Зобнина¹,
В.А. Прохоров¹, С.Г. Инге-Вечтомов¹, Ю.О. Чернов²

¹ Санкт-Петербургский государственный университет

² School of Biological Sciences, Georgia Institute of Technology, Atlanta, GA, USA

a.rubel@spbu.ru

Амилоиды — это упорядоченные белковые фибриллы, способные к воспроизведению по механизму нуклеированной полимеризации. Изучение амилоидов представляет большой интерес, так как они связаны с более чем 70 заболеваниями человека и животных, известными как амилоидозы. Наиболее распространёнными амилоидозами являются болезни Альцгеймера и Паркинсона, диабет 2 типа и прионные заболевания. Амилоидозы также могут быть связаны с некоторыми раковыми заболеваниями и преэклампсией, патологией, возникающей при беременности. В настоящее время большинство амилоидозов являются смертельными и неизлечимыми. Наряду с патологическими амилоидами, известны и функциональные амилоиды, которые выполняют важные биологические функции. Количество белков, способных образовывать функциональные и патологические амилоиды, постоянно расширяется. Например, некоторые биоинформатические алгоритмы предсказывают, что свойство формирования амилоидов может быть присуще более чем ста белкам человека.

В рамках данной работы мы провели масштабные поиски амилоидогенных белков и их доменов в пределах протеома человека, а также проверили предсказания, сделанные различными биоинформатическими алгоритмами. Для оценки амилоидогенного потенциала белков мы использовали разработанную нами оригинальную дрожжевую тест-систему, которая позволяет оценить это свойство, как у отдельных белков, так и проводить масштабные скрининги амилоидогенных белков методами генетического анализа [1]. С помощью тест-системы мы обнаружили более 30 белков, склонных к амилоидной агрегации. Среди них белки большой и малой субъединицы рибосомы, факторы транскрипции и трансляции, а также белки, вовлеченные в канцерогенез. Для ряда выявленных в дрожжевой модели белков амилоидные свойства были подтверждены *in vivo* и *in vitro*.

[1] Chandramowlishwaran P. et al. Mammalian amyloidogenic proteins promote prion nucleation in yeast // J Biol Chem. 2018 293(9):3436–3450. doi: 10.1074/jbc.M117.809004.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 20-14-00148-П и СПбГУ (проект № 95444727). В работе использовали приборную базу РЦ «РМиКТ» и «Хромас» Научного парка СПбГУ.



Белок MBP — новый функциональный амилоид мозга млекопитающих

Е.И. Сысов^{1 2}, А.А. Шенфельд^{1 2}, Т.А. Белашова^{1 3}, А.П. Галкин^{1 2}

¹ Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики РАН им. Н.И. Вавилова (Санкт-Петербург), Россия

² Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия

³ Лаборатория биологии амилоидов (Санкт-Петербург), Россия

evgeniy_sysoev1@mail.ru

Амилоиды — белковые фибриллы, которые образуются за счёт межмолекулярных водородных связей между остатками amino- и карбоксильных групп аминокислотных остатков. Традиционно амилоиды принято рассматривать как патологические структуры, однако за последнюю четверть века была открыта группа так называемых функциональных амилоидов. Белки этой группы, несмотря на схожесть свойств с патологическими, жизненно необходимы для существования различных организмов от бактерий до человека. Ранее в нашей лаборатории был разработан метод протеомного скрининга амилоидов (PSIA-LC-MALDI), который основан на их универсальном свойстве — устойчивости к додецилсульфату натрия, или SDS. В ходе скрининга протеома головного мозга крысы *R. norvegicus* был обнаружен белок MBP (Myelin Basic Protein). Данный белок необходим для формирования и поддержания стабильности миелиновых оболочек ЦНС в течение всей жизни.

С использованием биоинформатических подходов, а также делеционного анализа в дрожжевой модельной системе был выявлен минимальный фрагмент MBP с 60-й по 119-ю аминокислоту, ответственный за агрегацию. При помощи бактериальной системы C-DAG были получены фибриллы MBP(60–119), которые при окрашивании амилоид-специфичным красителем Конго красный (CR) демонстрируют зелёное свечение в поляризованном свете, что традиционно считается доказательством амилоидной природы белка. Биоинформатический анализ выявил консервативную амилоидогенную последовательность VVHFF в белке MBP у представителей всех классов челюстных позвоночных животных. Фракционирование гомогенатов головного мозга показало, что белок MBP формирует SDS-устойчивые олигомеры и агрегаты *in vivo* в ЦНС крысы *R. norvegicus*, а также в мозге лягушки *R. temporaria*, черепахи *T. scripta* и курицы *G. gallus domesticus*. С использованием методов иммуногистохимии была показана колокализация белка MBP с амилоид-специфичными красителями CR и тиофлавином S у представителей классов амфибии, рептилии, птицы и млекопитающие. Более того, при помощи иммунопреципитации были выделены амилоидные фибриллы белка MBP из мозга крысы, которые окрашиваются CR и демонстрируют зелёное свечение в поляризованном свете. Полученные данные свидетельствуют о том, что амилоидные фибриллы MBP способствуют компактизации миелиновых оболочек и изоляции аксонов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 20-14-00148, а также ресурсных центров «ЦКП Хромас» и «РМиКТ» научного парка СПбГУ.



Белок Dps *Salmonella enterica* subsp. *enterica* var. *Issatschenko* формирует фибриллы с амилоидными свойствами

Х. Фаюд^{1 2}, М.В. Белоусов^{1 2}, М.И. Сулацкий³, А.И. Сулацкая³, А.А. Нижников^{1 2}

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

² Биологический факультет, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

³ Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

h.fayoud@arriam.ru

Амилоиды представляют собой фибриллярные белковые агрегаты с упорядоченной пространственной структурой, называемой «кросс-β». Эта структура обеспечивает амилоидам устойчивость к ионным детергентам, а также определяет характерные эффекты при взаимодействии амилоидов с определенными красителями, такие как двойное лучепреломление яблочно-зеленого цвета при связывании с Конго красным и усиление флуоресценции при связывании с Тιοфлавином Т. Поиск новых амилоидов представляет собой актуальную задачу современной биологии, обусловленную их участием в различных патологических и функциональных биологических процессах. Прокариоты, особенно бактерии, проявляют богатое разнообразие функциональных амилоидов, выполняющих функции в формировании биопленок, преодолении поверхностного натяжения среды и метаболизме бактериальных токсинов.

Используя методы протеомного и биоинформатического анализа, мы выявили белки-кандидаты, формирующие устойчивые к детергентам агрегаты в клетках свободноживущей культуры *Salmonella enterica* subsp. *enterica* var. *Issatschenko*. Из этих кандидатов для дальнейшего исследования амилоидных свойств был выбран белок Dps, принадлежащий к семейству ферритинов и обладающий способностью связываться с ДНК. Нами была показана способность Dps формировать устойчивые к детергентам и протеазам агрегаты при различных условиях pH и концентрациях добавленных солей. В течение 7 месяцев спонтанной агрегации белок Dps образовывал четкие фибриллы, которые связывают Конго красный, проявляя двойное лучепреломление в поляризованном свете. Полученные фибриллы обладают спиральной закрученностью, при исследовании с помощью просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ). Секретия белка Dps на поверхность *E. coli* в системе C-DAG (curli-dependent amyloid generator / экстраклеточная система агрегации) привела к появлению красных колоний, свидетельствующих об образовании на поверхности клеток агрегатов, проявляющих способность связываться с Конго красным и вызывать двойное лучепреломление, а также образовывать типичные фибриллы, исследованные с помощью ПЭМ.

В целом полученные данные показывают, что белок Dps *Salmonella enterica* subsp. *enterica* var. *Issatschenko* обладает амилоидными свойствами *in vitro* и проявляются некоторые из свойств амилоидов при сверхпродукции *in vivo*.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 24-26-00124.



Системный анализ протеомов растений в ответ на недостаток влаги

И.А. Фесенко¹, А.С. Мамаева¹, Р.А. Азаркина¹, А.А. Макеева¹, С.И. Ковальчук¹

¹ ФГБНУ «Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова» (ФГБНУ ИБХ РАН), Москва
i@fesigor.ru

Засуха представляет собой значительную угрозу для урожая сельскохозяйственных растений, поэтому детальное понимание механизмов устойчивости к этому типу стресса является важной научной задачей. В этой связи мы исследовали протеомный ответ двух важнейших сельскохозяйственных культур — пшеницы и рапса, — в условиях недостатка влаги. Растения выращивали на гидропонике на среде Хогланда, недостаток влаги создавали добавлением 20% полиэтиленгликоля (ПЭГ). Белок из корней и листьев выделяли фенольным методом, далее проводили трипсинолиз в растворе и присоединение изобарных меток для качественного и количественного анализа (iTRAQ). В результате мы обнаружили изменения в представленности белков первичного метаболизма, фотосинтетических белков, белков рибосом и структурных белков хроматина. Важным результатом является обнаружение изменения представленности nsLTP (неспецифический транспортёр липидов), которые относятся к цистеин-богатым регуляторным пептидам и контролируют множество физиологических процессов.

Транскриптомный анализ обладает большей разрешающей способностью, чем анализ протеома, а также позволяет выявить транскрипцию коротких последовательностей, например, таких, как длинные некодирующие РНК. Поэтому поиск биоактивных пептидов — потенциальных регуляторов устойчивости растений к засухе — проводили в опубликованных ранее транскриптомных данных. Мы обнаружили статистически значимые изменения экспрессии пептидов из 21 и 25 семейств у растений пшеницы и рапса. Интересно, что ряд представителей также относилось к семейству nsLTP, что согласуется с полученными нами протеомными данными. Значимо меняется представленность таких пептидов, претерпевающих посттрансляционные модификации, как CIF, PSY, PSK, а также цистеин-богатых пептидов RALF. Таким образом, регуляторные пептиды играют важную роль в ответе растений на абиотический стресс.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (Грант № 23-66-10013).



Гликирование растительных белков в контексте онтогенетических изменений и экологических взаимодействий

А. А. Фролов¹

¹ Москва

afrolov0375@yandex.ru

Гликирование представляет собой обширную группу неферментативных посттрансляционных модификаций белков, образующиеся в результате взаимодействия их amino- и гуанидиновых групп с карбонильными соединениями — восстанавливающими сахарами и α -диакрбонильными продуктами их окислительной деградации. Химические процессы, лежащие в основе гликирования и обычно называемые «реакцией Майяра белков», хорошо известны в клинике и пищевой химии. Действительно, образующиеся конечные продукты гликирования (КПГГ), с одной стороны, вносят значительный вклад в старение и патогенез таких заболеваний, как атеросклероз, сахарный диабет, болезнь Альцгеймера, а с другой — образуются при термической обработке продуктов питания. В организме человека КПГГ оказывают выраженное провоспалительное и атерогенное действие. Несмотря на то, что гликирование белков животных и человека известно уже почти столетие, у растений этот процесс был описан всего десять лет назад, когда было показано увеличение образования КПГГ в тканях растений арабидопсиса в присутствии света высокой интенсивности. В наших последующих работах было показано, что конститутивный уровень образования КПГГ в тканях растений значительно выше, чем в крови и тканях животных — в белках арабидопсиса и рапса было обнаружено более 1000 сайтов гликирования. Однако в механизмах, закономерностях и промежуточных продуктах гликирования в растительных и животных тканях наблюдались существенные различия. Таким образом, в отличие от животных, в тканях растений КПГГ преобладают над продуктами раннего гликирования, а уровень модификаций аргининовых остатков, которые встречаются в основном в регуляторных белках, выше. Это наблюдение хорошо согласуется с высоким содержанием в растительных тканях активных форм кислорода (АФК) и высокореактивных сахаров, которые (в отличие от глюкозы у животных и человека) являются основными агентами гликирования в растениях. Далее мы показали, что уровень гликирования специфических участков белков — так называемых «горячих точек» гликирования — избирательно увеличивается с возрастом органов растений. Примечательно, что это затрагивает не только листья, но и такие специфические структуры, как корневые клубеньки бобовых. Интересно, что подобные очаги гликирования были обнаружены в растительных белках, подверженных засухе и световому стрессу. Важно отметить, что в значительной степени такие участки гликирования были обнаружены в регуляторных белках — факторах транскрипции, рецепторах, регуляторных ферментах. Это позволяет предположить роль гликирования в регуляции различных физиологических ответов у растений, что, безусловно, открывает новую страницу в биологии растений.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 23-14-00383.

Симпозиум 9: **Генетика человека**
Symposium 9: **Human Genetics**



Омики единичных клеток в исследованиях рака

Е.В. Денисов^{1,2}, Т.С. Геращенко^{1,2}, М.Е. Меньяло^{1,2}, Е.С. Колегова¹, М.Р. Патышева¹,
А.А. Хозяинова¹, П.С. Ямщиков¹, В.Ю. Коробейников¹, Е.В. Волчков^{2,3}, А.В. Иконников²,
К.И. Кирсанов⁴, Т.И. Фетисов⁴, В.М. Перельмутер¹, М.Г. Якубовская⁴, Н.В. Чердынцева¹

¹ НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН, Томск

² НИИ молекулярной и клеточной медицины МИ РУДН, Москва

³ НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, Москва

⁴ НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, Москва

dnsv.ev@gmail.com

Омики или омиксные технологии на уровне единичных клеток (от англ. single cell omics) являются современным и революционным инструментом в изучении молекулярного портрета клеток в составе сложно устроенных тканей и органов живых организмов. Позволяя определять геномные, эпигеномные, транскриптомные, протеомные и метаболомные особенности каждой клетки в отдельности, данный подход является ключом к пониманию механизмов протекания биологических процессов и особенностей функционирования живых организмов в нормальных и патологических условиях. В данном докладе представлен собственный опыт применения секвенирования РНК и ДНК единичных клеток и пространственной транскриптомики в исследовании молекулярного профиля карцином, сарком мягких тканей и злокачественных лимфопрлиферативных заболеваний. На модели рака молочной железы оценена гетерогенность циркулирующих опухолевых и гибридных клеток, выделены основные популяции и определены метастаз-иницирующие клетки и их транскрипционные особенности. При трижды-негативном раке молочной железы оценена динамика изменения иммунной системы и опухолевого микроокружения в ходе неoadъювантной химиотерапии и определены предикторы эффективности лечения. При раке языка у молодых пациентов идентифицированы иммуносупрессивные популяции клеток, сигнальные пути и патогенетически значимые процессы и проведена реконструкция траекторий развития опухолей от опухоль-иницирующих клеток до их агрессивных «потомков». При плеоморфной саркоме охарактеризовано иммунное микроокружение опухоли со значительной инфильтрацией M2-макрофагами, обнаружены различные популяции опухолевых клеток с агрессивным стволовым, гипоксическим и пролиферирующим фенотипом и выявлены потенциальные транскрипционные маркеры химиочувствительности. При ювенильном миеломоноцитарном лейкозе выявлены генетические события, сигнальные и метаболические пути, вовлеченные в развитие и прогрессию данного заболевания. При анапластической крупноклеточной лимфоме охарактеризовано иммунное микроокружение опухоли и обнаружен новый механизм ускользания опухоли из под иммунного надзора. Таким образом, анализ единичных клеток на уровне различных омик представляет собой эффективный подход к расшифровке внутриопухолевой гетерогенности и выявлению ключевых молекулярных паттернов, вовлеченных в формирование и прогрессирование злокачественных заболеваний.

Исследования выполнены при финансовой поддержке грантов РФФИ № 19-75-30016, 22-15-00308, 22-75-10128 и 23-65-00003.



Молекулярный ландшафт незавершенного остеогенеза у пациентов из Республики Башкортостан

А.Р. Зарипова¹, Р.И. Хусаинова²

¹ Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра (г. Уфа)

² Эндокринологический научный центр (г. Москва)

a.ramilna@bk.ru

Проведено исследование по изучению генетической архитектуры незавершенного остеогенеза (далее НО, МКБ10: Q78) — клинически и генетически гетерогенного наследственного заболевания соединительной ткани, симптомами которого являются голубые склеры, множественные переломы и скелетные деформации.

Проанализировано 139 образцов геномной ДНК пробандов и членов их семей с НО. Исследование проводилось с применением современных методов ДНК-анализа: выделение геномной ДНК с фенольно-хлороформной экстракцией, полимеразная цепная реакция синтеза ДНК, массовое параллельное секвенирование (NGS), секвенирование по Сэнгеру. Применены современные методы биоинформатической обработки, использованы общедоступные базы данных для анализа полученных результатов и различные предсказательные программы. Также проведен тщательный анализ зарубежных и отечественных исследований по описанным ранее вариантам за период с 1983 по 2023 год. Все патогенные изменения нуклеотидной последовательности в двух генах коллагена I соответствуют критериям, рекомендованным Американским колледжем медицинской генетики и геномики, а также Ассоциацией молекулярной патологии.

В результате исследования выявлено 40 патогенных изменений нуклеотидной последовательности в 4 генах, приводящих к развитию НО у 66 пациентов из 54 семей. Среди них найдено 29 мутаций в гене *COL1A1* у 38 пациентов из 43 семей, 7 мутаций у 18 пациентов из 13 семей в гене *COL1A2*, 3 мутации у 2 пациентов из 2 неродственных семей в гене *P3H1*, в гене *IFITM5-1* изменение в 3 неродственных семьях у 3 пациентов.

В нашей выборке встретились компаунд-гетерозиготы в гене *P3H1* сразу в двух неродственных семьях. В первой семье — с.1051G>T (p. Glu351Ter) и с.1948G>A (p. Gly650Arg); во второй семье — с.1720+4G>C и с.1051G>T (p. Glu351Ter), которые привели к развитию VIII (III) типа НО у пациентов с НО башкирской этнической принадлежности.

В гене *IFITM5* найдена мутация с.-14C>T у 3 пациентов из 3 неродственных семей, которая является причиной НО V типа. Все три случая являются *de novo*.

В связи с большим числом молекулярных причин и клинических масок заболевания, наблюдается трудность в постановке правильного диагноза. Поэтому использование массового параллельного секвенирования является наиболее эффективным методом для поиска патогенных молекулярных дефектов в генах, ответственных за развитие НО.

Спектр патогенных генетических вариантов у пациентов с гиперхолестеринемией в Северо-Западном регионе России

А.Д. Изюмченко^{1 2}, М.Н. Грунина^{1 2}, М.В. Музалевская^{3 4}, К.В. Драчева^{1 2}, К.В. Легостаева²,
А.Н. Куликов², С.В. Линькова⁵, С.А. Уразгильдеева^{3 4}, Н.Н. Смирнова², В.С. Гуревич^{3 4}, С.Н. Пчелина¹
², В.В. Мирошникова^{1 2}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина

² ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

³ СЗОНКЦ им. Л.Г. Соколова, Санкт-Петербург

⁴ НКиОЦ «Кардиология» СПбГУ, Санкт-Петербург

⁵ ДГМКЦ ВМТ им. К.А. Раухфуса, Санкт-Петербург

artemiz98@yandex.ru

Дислипидемии — группа заболеваний, характеризующихся нарушениями обмена липопротеинов. Среди наследственных форм самой распространенной является семейная гиперхолестеринемия (СГХ). Для СГХ характерны повышение уровня холестерина липопротеинов низкой плотности и высокий риск развития сердечно-сосудистых заболеваний. Совершенствование алгоритмов молекулярно-генетической диагностики наследственных дислипидемий актуально для раннего выявления лиц с СГХ и прогноза развития сердечно-сосудистых заболеваний.

Целью данной работы являлось исследование спектра патогенных вариантов, ассоциированных с гиперхолестеринемией в Северо-Западном регионе России.

В исследование было включено 105 пациентов с нарушениями липидного обмена: 87 взрослых (возможная (14) /вероятная (11) /определенная (36) СГХ; тяжелая гипертриглицеридемия, анамнез ранних сердечно-сосудистых катастроф в возрасте до 50 лет (26) и 18 детей (8,4 ± 2,6). Секвенирование проводили по описанному ранее протоколу [1]. Верифицировали результаты методом секвенирования по Сенгеру.

В когорте взрослых пациентов наиболее часто выявлялись патогенные и вероятно патогенные варианты в генах *LDLR* (21) и *APOB* (5). В случае гена *APOB* во всех случаях был выявлен патогенный вариант NM_000384.3: c.10580G > A p. (Arg3527Gln). Среди патогенных вариантов в гене *LDLR* можно выделить варианты, приводящие к образованию стоп-кодонов: NM_000527.5: c.810C > A p. (Cys270Ter) и NM_000527.5: c.1048C > T p. (Arg350Ter). Кроме того, было выявлено 20 миссенс-вариантов и 4 варианта сплайсинга. В группе детей было выявлено 6 патогенных и вероятно патогенных вариантов в генах: *LDLR* (2), *APOB* (1), *APOE* (1) и *ABCG8* (2). У одного из пациентов с патогенным вариантом *ABCG8* удалось провести дифференциальную диагностику редкой дислипидемии — ситостеролемии.

По результатам исследования 87 взрослых пациентов в Северо-Западном регионе можно отметить, что частота выявления патогенных и вероятно патогенных вариантов в генах липидного обмена выше как для пациентов с определенной СГХ (47,2%), так и для пациентов возможная/вероятная/определенная СГХ (39,3%) по сравнению с пациентами с анамнезом ранних сердечно-сосудистых катастроф (7,7%). В группе пациентов с анамнезом ранних сердечно-сосудистых катастроф было выявлено 2 патогенных варианта у 26 исследованных пациентов, в то время как для возможной/вероятной/определенной СГХ — 24 патогенных и вероятно патогенных варианта у 61 исследованного пациента. В группе детей выявляемость патогенных и вероятно патогенных вариантов оказалась выше (33,3%), чем в группе взрослых пациентов (27,6%).

[1] Miroshnikova V. V. et al, J Pers Med. 2023 Oct 14;13(10):1492.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 1023031500037–7–1.6.8;1.6.1;1.6.2;1.6.3 «Изучение молекулярных и клеточных компонентов патогенеза социально-значимых заболеваний для разработки методов ранней диагностики и лечения»). Пациенты обследованы в рамках гранта № 075-15-2022–1110 и «Приоритет 2030» грант № 075-15-2023–132.



Статистическое исследование генетических факторов фенотипической гетерогенности в генах с множественными ассоциированными редкими заболеваниями

Т.Е. Лазарева¹, Ю.А. Барбитов¹, Ю.А. Насыхова¹, А.С. Глотов¹

¹ ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург

tatiana.ev.lazareva@gmail.com

Введение: Фенотипическая гетерогенность является важной проблемой, затрудняющей интерпретацию результатов секвенирования из-за неоднозначной взаимосвязи генотипа и фенотипа. В настоящем исследовании были систематически проанализированы потенциальные генетические факторы, которые могут быть причиной фенотипических различий заболеваний, связанных с одним геном.

Методы: В качестве источника информации об ассоциациях генов с заболеваниями мы использовали данные проекта Human Phenotype Ontology. Информация о связи генетического варианта с болезнью была получена из ClinVar. Эти данные были использованы для сравнения типа и локализации причинных вариантов между заболеваниями, связанных с одним геном.

Кроме того, мы проводили сравнение свойств таких генов, для которых описана связь с несколькими заболеваниями (ГМЗ): консервативности, уровень экспрессии, вовлеченность в биологические процессы.

Результаты: Наш анализ показал, что ГМЗ более консервативны и широко распространены среди ген наследственных заболеваний сердца и двигательных расстройств. Различия в локализации или типе причинных вариантов между ассоциированными заболеваниями наблюдались для 49 из 670 ГМЗ. Интересно, что эти факторы оказались более значимы для генов аутосомно-доминантных заболеваний. Дальнейший анализ выявил влияние типа варианта на развитие конкретного фенотипа для 30 ГМЗ и локализации варианта в кодирующей части гена для 38 ГМЗ. Примечательно, что 19 ГМЗ, ассоциированных с двумя различными заболеваниями, демонстрировали различия как в локализации, так и в соотношении типов причинных вариантов для двух заболеваний.

Выводы: Обнаруженные ассоциации между характеристиками генетических вариантов и фенотипическими проявлениями для 49 ГМЗ могут быть использованы для аннотации и приоритизации вариантов в этих генах.



Цитогеномика онтогенеза: нестабильность и пластичность генома в индивидуальном развитии

И.Н. Лебедев¹

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский
медицинский центр РАН, г. Томск

igor.lebedev@medgenetics.ru

Ранние этапы эмбрионального развития человека в значительной степени зависят от сбалансированности хромосомного набора. В серии многочисленных исследований, проведенных на протяжении более 60 лет, установлено, что в среднем около 50% случаев остановки эмбрионального развития обусловлено числовыми и структурными нарушениями хромосом. Вместе с тем, использование высокоразрешающих технологий молекулярного кариотипирования и секвенирования нового поколения добавляет к этой оценке еще порядка 20–35% аномалий, представленных как микроструктурными абберациями хромосом, так и мозаичными формами нарушений кариотипа, не выявляемых традиционными цитогенетическими методами. Возникновение мозаичных аномалий является результатом митотической нестабильности генома, фиксируемой на самых ранних постзиготических этапах развития в ходе процедур преимплантационного генетического тестирования. С другой стороны, растет объем информации об успешных переносах мозаичных эмбрионов в циклах ЭКО, завершающихся рождением детей с нормальным хромосомным набором. Цитогенетические механизмы такого феномена во многом остаются дискуссионными, однако становится очевидным, что ранние этапы эмбрионального развития человека сопровождаются как возрастанием частоты постзиготических хромосомных нарушений, так и активными процессами самокоррекции кариотипа. С использованием различных маркерных цитогенетических систем нами показано, что от 35 до 53% спонтанных абортусов с предварительно установленным нормальным кариотипом имеют мозаичные тканеспецифичные варианты в числе копий участков ДНК (CNV) или регионов гомозиготности (ROH), отражающих процессы коррекции хромосомного набора. Кроме того, установлено, что распределение мозаичных анеуплоидий между производными эмбриональных и экстраэмбриональных зародышевых листков может затрагивать жизнеспособность эмбриона. Таким образом, исследования цитогенетических механизмов раннего эмбрионального развития человека становятся крайне необходимыми для повышения эффективности процедур преимплантационного и пренатального генетического тестирования.

[1] Essers, Lebedev, Kurg et al. *Nat Med.* 2023. PMID: 37996709.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-65-00017, <https://rscf.ru/project/21-65-00017>.



Идентификация генных комплексов, ассоциированных с уровнем интеллекта человека

И.Б. Моссе¹, Т.В. Докукина²

¹ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси

² РНПЦ психического здоровья МЗ РБ

i.mosse@igc.by

Результаты крупнейших опубликованных GWAS исследований способствовали выявлению ряда генов, ассоциированных с различными показателями интеллекта. Однако размеры их эффектов, как правило, очень малы (1–2%). Уровень интеллекта является результатом влияния большого количества генов, и эффект их взаимодействия может многократно превышать сумму эффектов отдельных генов. Выявление таких эффектов представляет несомненный научный интерес.

Материалом для исследования являлась репрезентативная выборка представителей белорусской популяции (746 человек) из разных регионов страны, разных специальностей, с различным уровнем образования, различного семейного положения. Уровень интеллекта (IQ) определяли методом Д. Векслера. Молекулярно-генетическое тестирование осуществляли методом ПЦР в реальном времени.

Проводили сравнение частот 18 полиморфных вариантов генов нейрогенеза, синаптической пластичности и нейромедиаторных систем в группах с низким IQ (от 40 до 90) и высоким IQ (от 125 до 150 IQ). Статистически значимые различия были выявлены только по одному из 18 исследованных генных вариантов — *FOXO3* rs2490272. Для того, чтобы оценить эффект взаимодействия генов, использовали разработанную нами ранее компьютерную программу, позволяющую проводить эффективный поиск прогностически значимых комплексов генов среди миллионов генных сочетаний.

С помощью данной программы были выявлены 13 наиболее информативных сочетаний полиморфных вариантов генов, ассоциированных с уровнем интеллекта. Частоты этих комплексов с высокой статистической значимостью (p -value равно от 0.03 до 0.002) различаются в группах индивидов с низким и высоким уровнем интеллекта и могут быть использованы для оценки индивидуальной генетической предрасположенности к формированию интеллекта определённого уровня. Наиболее часто (в 53.8% случаев) в этих сочетаниях встречается полиморфный вариант *FOXO3* rs2490272 (T/T), который оказался информативным и при сравнении эффектов отдельных генов, очевидно данный генный вариант вносит существенный вклад в детерминацию интеллекта.



Молекулярный портрет атеросклеротической бляшки

М.С. Назаренко¹, А.А. Слепцов¹, В.П. Пузырев¹

¹ НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ

maria.nazarenko@medgenetics.ru

В настоящее время проблема поиска «скрытой» наследуемости многофакторных заболеваний трансформируется в научную стратегию анализа структуры подверженности данных заболеваний через интегрированное «мультиомное» профилирование тканей и клеток, решение которой особенно важно для прецизионной медицины. В частности, доступным объектом для исследования является атеросклеротическая бляшка, которая является патоморфологическим субстратом и причиной развития острых сосудистых катастроф, что является медико-социальной проблемой мирового уровня. В лаборатории популяционной генетики проведен комплексный анализ структурно-функциональной вариабельности генома клеток сосудов и лейкоцитов при выраженном атеросклеротическом поражении коронарных и сонных артерий у человека. Использование «мультиомного» подхода подчеркивает важную роль трансформации фенотипа клеток сосудов и иммуно-воспалительного звена как «драйверных» процессов для развития осложнений атеросклероза. При анализе динамичных эпигеномных и транскриптомных профилей тканей артерий существует необходимость учета их клеточного состава/проведения анализа отдельных клеток. Специфичность метилирования ДНК, экспрессионные профили мРНК и микроРНК клеток артерий позволяют выделить субфенотипы атеросклеротических бляшек. Неотъемлемым дополнением «мультиомного» профилирования тканей и клеток человека является использование культур клеток и модельных животных для уточнения причинно-следственных отношений процессов, а также разработки подходов к лечению атеросклеротического поражения артерий.



Популяционная транскриптомика децидуальных клеток человека при физиологической и патологической беременности

Е.А. Трифонова¹, А.А. Бабовская¹, А.А. Зарубин¹, М.Г. Сваровская¹, В.А. Степанов¹

¹ Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск
ekaterina.trifonova@medgenetics.ru

Популяционная транскриптомика — многообещающий подход для поиска РНК-маркеров заболеваний, частота которых варьирует в популяциях. В представленной работе мы применили данный подход к изучению генетической архитектуры преэклампсии (ПЭ), являющейся основной причиной материнской и перинатальной смертности в мире. Установлено, что ключевую роль в развитии этой акушерской патологии играет нарушение децидуализации эндометрия, однако точный молекулярный механизм ПЭ, как и причины наблюдаемых различий в частоте этой патологии в различных популяциях, до сих пор остаются неясными. В связи с чем, цель нашей работы заключалась в характеристике вариабельности экспрессии генов децидуальных клеток (ДК) при физиологической и патологической беременности в различных популяциях человека.

Полнотранскриптомный профиль ДК плаценты 110 женщин с физиологической беременностью (ФБ) и ПЭ, представляющих 4 этнические группы (русские, буряты, татары, узбеки), был охарактеризован с помощью RNA-seq. Идентифицировано 26859 транскриптов, из которых 2,1% являлись дифференциально экспрессирующимися при попарном сравнении выборок с ФБ из 4-х изученных популяций. Функциональная аннотация свидетельствует о вовлеченности этих дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) в процессы иммунной системы, гомеостаз и транспорт катионов, а также хроническую воспалительную реакцию.

Анализ дифференциальной экспрессии при ФБ и ПЭ выявил 298 ДЭГ у русских и 536 — у бурят, из которых только 48 являются общими. Транскриптомный профиль ДК у пациенток с ПЭ из русской популяции ассоциирован с такими процессами, как поляризация мембран, метаболизм жирных кислот и катаболизм триглицеридов, тогда как для бурят продемонстрирована связь с процессами апоптоза, дифференцировки и клеточного роста. Общие ДЭГ сверхпредставлены в процессах формирования нервных тканей, метаболизма фосфатидилхолина и транспорта жирных кислот. Пациентки с ПЭ характеризовались меньшей межпопуляционной и межиндивидуальной вариабельностью экспрессии генов по сравнению с женщинами с ФБ.

Таким образом, впервые получены оценки межпопуляционной вариабельности полногеномной экспрессии генов на уровне отдельных клеток как при физиологической так и патологической беременности. Транскриптомные профили ДК, ассоциированные с ПЭ, демонстрируют как популяционную специфику (в большей степени), так и общность. Показана значимая роль в наблюдаемой популяционной дифференциации транскриптомных паттернов ДК эпигенетических механизмов регуляции экспрессии генов.



Особенности формирования судебных баз данных по гаплогруппам Y-хромосомы для мегаполисов с учетом миграции

И.Г. Удина¹, А.С. Грачева¹, М.А. Губина², О.Л. Курбатова¹

¹ *Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва*

² *Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск*

irina_udina@mail.ru

На территории РФ установлены 16 мегаполисов (Москва, Санкт-Петербург, Новосибирск, Нижний Новгород, Екатеринбург, Самара, Омск, Казань, Челябинск, Ростов-на-Дону, Уфа, Пермь, Красноярск, Воронеж, Волгоград, Краснодар), в которых проживает около 30% от всего населения страны. В данном исследовании рассмотрены три наиболее крупных мегаполиса (Москва, Санкт-Петербург и Новосибирск). Помимо русских, как преобладающей этнической группы, в этих мегаполисах проживает большое количество представителей разных национальностей, в основном мигрантов с территории РФ и «ближнего зарубежья». В предшествующие десятилетия интенсивная миграция в Москву происходила из регионов Северного Кавказа и Закавказья, а в последнее время усилилась миграция из регионов Средней Азии. Все это приводит к появлению нехарактерных для населения изучаемых мегаполисов гаплогрупп Y-хромосомы. Миграция может повлиять и на частоты наиболее распространенных у русских гаплогрупп Y-хромосомы. В этой связи, выборки из мужского населения Москвы (3 поколения), Новосибирска и Санкт-Петербурга изучены в отношении особенностей распространения гаплогрупп Y-хромосомы. В трех мегаполисах выявлен спектр, характерных для русского населения гаплогрупп Y-хромосомы (R1a, N, I1, I2, E1b1b, R1b, J1 и J2), установлена гетерогенность профилей частот гаплогрупп Y-хромосомы. Рассмотрены особенности накопления в генофондах трех мегаполисов «южных по происхождению» гаплогрупп (C3, G2a, G2c, J1, J2, L, O2, O3, Q, R2 и T). В течение трех поколений жителей Москвы доля «южных по происхождению» гаплогрупп в генофонде населения Москвы возросла практически вдвое с 11% до 21%. Одновременно в Москве доля самой распространенной гаплогруппы R1a снизилась с 53% до 45%, а доля широко распространенной гаплогруппы N — с 18% до 10%. Максимально интенсивный процесс миграции из южных регионов в Москву установлен для самого молодого поколения — выборки новорожденных 2017 года. Таким образом, можно рассматривать как высокоинформативные маркеры для разработки прогноза динамики генофонда мегаполиса гаплогруппы Y-хромосомы, проникающие в генофонды мегаполисов из более южных регионов за счет миграционных потоков, и широко распространенные гаплогруппы, для которых отмечены различия между населением мегаполиса и потоками мигрантов, а также выражена их динамика в поколениях. Из старших поколений населения мегаполисов Москвы и Новосибирска в последнем отмечена самая низкая частота «южных по происхождению» гаплогрупп (0,025%), что, вероятно, обусловлено относительно более поздней интенсивной миграцией из южных регионов. Полученные результаты свидетельствуют в пользу необходимости создания отдельных судебных баз данных по гаплогруппам Y-хромосомы для каждого мегаполиса, принимая во внимание географическое положение и учитывая специфику генетико-демографических процессов, в первую очередь параметров миграции. Особенно следует подчеркнуть необходимость учета возрастного фактора, так как представители разных поколений испытывают влияние различных потоков мигрантов. Эти факторы необходимо учитывать при обновлении и актуализации баз данных.



Самодийский генетический субстрат в генофондах коренных народов Западной и Южной Сибири

В. Н. Харьков¹, Л. В. Валихова¹, Н. А. Колесников¹, А. А. Зарубин¹, И. Ю. Хитринская¹, В. А. Степанов¹

¹ «Научно-исследовательский институт медицинской генетики», федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»

vladimir-kharkov@medgenetics.ru

Западная и Южная Сибирь — уникальный регион с точки зрения этнокультурного многообразия проживающего здесь населения. Одним из достаточно древних и широко распространенных на этой территории по данным антропологии, этнологии и лингвистики является самодийский компонент, который связан с одной из основных волн миграций. Современные народы, говорящие на самодийских языках, это лесные и тундровые ненцы, энцы, нганасаны и селькупы, разделенные на несколько территориальных групп. Относительно недавно некоторые самодийские этносы или субэтносы (камасинцы, маторы, койбалы, карагасы, тайгийцы, кашинцы) проживали в Саянах. Сейчас они полностью растворились в тюркском населении этих территорий.

Были использованы данные генотипов по 1677114 аутосомным SNP (биочип Illumina Multi-Ethnic Global-8) на 57 популяционных выборках коренных народов Сибири и данные генотипирования более 3500 Y-хромосомных SNP и 40 YSTR у более 2200 образцов мужчин, представляющих коренное население Сибири и соседних регионов. Для выявления компонентов у отдельных индивидов и популяций была использована программа ADMIXTURE, а также проведен сравнительный анализ данных аутосомных SNP и гаплогрупп и гаплотипов Y-хромосомы.

Самодийский генетический компонент не занимает преобладающую долю ни в одной из исследованных популяций. К сожалению, пока не были обследованы селькупы. Его максимальное значение показано у ненцев 30% и кетов. Этот компонент с меньшей долей присутствует у тувинцев (12%), манси (9%), хакасов качинцев (8%), омских татар (7%), алтай-кижи и телеутов (4%). Его доля с меньшим значением присутствует также у томских татар (4%), хантов (3%), хакасов сагайцев (3%), шорцев и чулымских тюрков (2%). Среди народов Восточной Европы этот компонент обнаружен у башкир (3%), коми, чувашей и мордвы (менее 1%). В Средней Азии с очень небольшой долей он присутствует у казахов, долган, киргизов (2%), уйгуров и узбеков (1%). В популяциях восточной части Сибири этот компонент не обнаружен.

Частота распределения самодийского компонента достоверно коррелирует с присутствием в этих популяциях гаплогруппы N1a2. Филогенетический анализ Y-хромосомных сублиний этой гаплогруппы по SNP и YSTR подтверждает, что центром происхождения и расселения носителей самодийского генетического компонента в Западной и Южной Сибири является территория современной Тувы, Хакасии и, возможно, прилегающих к ним южных территорий. Полученные результаты хорошо согласуются с данными этнологии, антропологии и лингвистики о вкладе аборигенного самодийского населения в формирование различных народов Алтая-Саян, их миграции на север и историческими ареалами самодийских языков.

Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда № 22-64-00060, <https://rscf.ru/project/22-64-00060/>.



Принципы эволюционной геномики в картировании наследственных факторов аутоиммунных заболеваний: опыт Эстонского Биобанка

Б.Б. Юнусбаев^{1 3}, С.С. Ряховский², М.М. Юнусбаева¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

² Университет ИТМО, Санкт-Петербург

³ Институт геномики, Тартуский университет, Тарту

yunusbb@gmail.com

Расшифровка функций генетических факторов сложных заболеваний является одной из центральных задач современной геномики. Поскольку большинство генетических локусов расположены в некодирующей части генома, то работа по приоритизации причинных мутаций и работа по установлению связи с генами и контекстом регуляции многократно усложняется.

Выбор генетического локуса со значимым вкладом в иммунный ответ также является нетривиальной задачей. В докладе будут представлены результаты масштабной работы по приоритизации генетических локусов аутоиммунных заболеваний, вносящих наиболее значимый вклад в иммунный ответ. Мы подошли к решению данной задачи, используя методы эволюционной геномики, которые опробованы на данных полногеномного секвенирования 2500 доноров биобанка Эстонии. Суть эволюционного подхода заключается в поиске кандидатных мутаций аутоиммунных заболеваний, находившихся под действием позитивного естественного отбора. Поиск мутаций под действием естественного отбора проводили с помощью реконструкции локальных генеалогий на базе расчета графов рекомбинаций (Speidel et al. 2019). В рамках проекта были реконструировали локальные генеалогии для 4838 кандидатных мутаций, представляющих 593 локусов риска широкого круга аутоиммунных и аллергических заболеваний (всего 21 заболеваний). Для части локусов (57/593) с помощью тонкого картирования удалось ко-локализовать наиболее вероятные кандидатные мутации риска заболеваний и мутации, находившиеся под действием естественного отбора. Данные мутации с высокой вероятностью вносят значимый вклад в иммунный ответ на организменном уровне, поскольку были подхвачены естественным отбором. Для этих мутаций мы также предсказали регуляторный эффект, таргетный ген и клеточные линии, где зарегистрирован регуляторный эффект. Полученные данные являются важной отправной точкой для экспериментального изучения генетических факторов распространенных аутоиммунных заболеваний. Наши результаты позволяют выбрать ключевые параметры экспериментального изучения локуса, так как предсказан клеточный контекст и ген, потенциально регулируемый кандидатной мутацией.

Симпозиум 10: Селекция и биотехнология растений
Symposium 10: Plant Biotechnology and Breeding



Development of haploid induction lines based on genome editing in *Brassica oleracea*

Xinyu Zhao¹, Hongrun Li¹, Kaiwen Yuan¹, Limei Yang¹, Yangyong Zhang¹, Yong Wang¹, Jialei Ji¹,
Zhiyuan Fang¹, Honghao Lv¹

¹ Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing, China

lvhonghao@caas.cn

Introduction. The species *Brassica oleracea* includes many economically important and morphologically diversified crops that are cultivated worldwide, namely, cole crops, such as cabbage, broccoli, cauliflower, kohlrabi and kale. Heterosis utilization in coles requires the development of homozygous lines that costs many years. Doubled haploid (DH) technology enables the generation of homozygous lines within only one or two years. However, traditional haploid induction (HI) in *B. oleracea* depends on *in vitro* microspore cultivation, which is not only complicated but also highly limited by genotype. In recent years, several genes, including *MTL/NLD/ZmPLA1* (Gilles et al. 2017), *ZmDMP* (Zhong et al. 2019), *ZmPOD65* (Jiang et al. 2022), *ZmPLD3* (Li et al. 2021) and *AtCENH3* (Ravi & Chan 2010), were found to be capable of inducing *in vivo* haploid embryos. However, whether they can be exploited in coles was unclear.

Results. We selected two haploid induction genes, *DMP* and *CENH3* for further study. We first discovered the genes with high similarity with *DMP* genes and *CENH3* genes in the whole genome of *Brassica oleracea* genome. *BoC03.DMP9* were highly similar to *ZmDMP* and *BoCENH3* was highly similar to *AtCENH3*. Then a qRT-PCR analysis revealed that the expression of *BoC03.DMP* and *BoCENH3* were both concentrated in the flower buds.

We employed the CRISPR/Cas9 approach to knock out *BoC03*, *DMP9*, *BoCENH3* and edit *BoCENH3* (Figure 1a-c). A CRISPR/Cas9 construct with a specific guide RNA (gRNA) sequence targeting the exon of *BoC03*, *DMP9* was generated and introduced into cabbage by *Agrobacterium*-mediated transformation, after which we obtained *boc03.dmp9* mutants. Then a construct with two specific guide RNA (gRNA) sequence targeting the exon of *Boc03.DMP9* was generated to obtain *cenh3* mutants. As homozygous knockout of *CENH3* are lethal, we took the same approach to knock out *BoCENH3* and simultaneously transfer a synonymous point mutation in the *BoCENH3* CDS, and the mutation positions were selected at the targets of the sgRNA to avoid being edited. Then we obtained *bocenh3-CENH3syn*. all of the three lines showing reduced seed sets (Figure 1d, e).

Finally, we carried out crossing tests using *dmp9*, *bocenh3* and *bocenh3-CENH3syn* mutants. Potential haploids identified by anthocyanin or molecular markers were further confirmed by cytometry analysis and plant phenotyping (Figure 1f, j-n). The haploid induction rates ranged from 0.16% to 2.35% for the two types of HI systems (Figure 1g, h).

Highlights. We developed two simple HI method with no genotype recalcitrance based on *DMP* and *CENH3* editing and misexpression in *B. oleracea*. The inducing system based on *BoC03.DMP9* is the first HI system in *B. oleracea*, which offers a novel, simple and cost-effective DH technology without genotype recalcitrance. Compared with *DMP*-based HI system, *CENH3*-based system can induce haploids as both male parents and female parents *in vivo*. Also, the '*bocenh3+SynCENH3*' strategy showed a higher HIR, which warrants further study for the sake of efficiency improvement. Furthermore, these HI systems can be extended to other dicotyledonous crops.



VIGS in sunflower: optimizing easy protocol to enhance viral spread and silencing efficiency

M. Mardini^{1, 3}, M.Y. Kazantsev^{1, 2}, E.A. Ivoilova¹, V.V. Utkina¹, I.V. Kirov^{1, 2}

¹ All-Russian Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow

² Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny

³ Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow

mr.majdmardini@gmail.com

Virus-induced Gene Silencing (VIGS) has become a potent tool in various domains of crop research. The escalating number of research endeavors dedicated to VIGS underscores its broad adoption and acknowledgment as a versatile instrument in advancing crop science and biotechnology. A pivotal determinant for achieving optimal VIGS efficiency is the delivery method, commonly facilitated by *Agrobacterium* [1]. One of the most common obstacles in VIGS studies is adapting infection protocols to new species while maintaining high silencing efficiency. Numerous factors can influence VIGS efficiency, including variables related to the growth conditions of treated plants, such as photoperiod, humidity, and temperature. The techniques for *Agrobacterium* inoculation also play a pivotal role in VIGS efficiency [2].

Sunflower (*Helianthus annuus* L.) is a widely cultivated crop primarily used for oil and confectionary production. Despite its agricultural significance, sunflower has traditionally posed challenges for transformation. In the realm of VIGS, only a limited number of studies on sunflowers have been conducted recently. In one study [3], researchers validated the role of the Ha-ROXL gene in flower development using two infiltration techniques: injection of the abaxial epidermis with a needleless syringe and wrapping cut or scratched tissue with a cotton piece soaked in infiltration suspension. In another study [4], authors successfully silenced the HaTubulin and OcQR1 genes using a seed soaking method, involving a seed surface sterilization pretreatment and a post-infection recovery on Murashige and Skoog medium for approximately 3 days. The moderate silencing efficiency and the requirement for an in vitro culture step significantly limit the application of the VIGS technique in sunflower studies. Therefore, there is a need to develop a robust and straightforward VIGS protocol for sunflowers. In this study, we present a simple seed-vacuum VIGS protocol for sunflowers. Aside from peeling the seed coats, our protocol necessitates no additional preparation of plant material. Importantly, no in vitro recovery or surface sterilization steps are required. A straightforward seed-vacuum infiltration, followed by a 6-hour co-cultivation, yielded the most efficient VIGS results, with an infection percentage of up to 77% and a targeted gene's silencing efficiency. Another aspect investigated in this study was the efficiency of VIGS in different genotypes, an aspect not yet addressed in sunflowers. Using our optimized VIGS protocol, we infected six different genotypes, revealing variability in susceptibility to TRV VIGS infection and spread among the tested genotypes. Finally, time-lapse observation demonstrated a more active spreading of the photo-bleached spots in young tissues compared to mature ones.

- [1] Zulfiqar, S.; Farooq, M. A.; Zhao, T.; Wang, P.; Tabusam, J.; Wang, Y.; Xuan, S.; Zhao, J.; Chen, X.; Shen, S.; Gu, A. Virus-induced Gene Silencing (VIGS): A Powerful Tool for Crop Improvement and Its Advancement towards Epigenetics // *Int J Mol Sci* **2023**, *24* (6).
- [2] Fei, Y.; Pyott, D. E.; Molnar, A. Temperature modulates virus-induced transcriptional gene silencing via secondary small RNAs // *New Phytol* **2021**, *232* (1), 356–371.
- [3] Basile, A.; Fambrini, M.; Tani, C.; Shukla, V.; Licausi, F.; Pugliesi, C. The Ha-ROXL gene is required for initiation of axillary and floral meristems in sunflower // *Genesis* **2019**, *57* (9), e23307.
- [4] Jiang, Z.; Zhao, Q.; Bai, R.; Yu, R.; Diao, P.; Yan, T.; Duan, H.; Ma, X.; Zhou, Z.; Fan, Y.; Wuriyanghan, H. Host sunflower-induced silencing of parasitism-related genes confers resistance to invading *Orobanche cumana* // *Plant Physiology* **2020**, *185* (2), 424–440.

This work was funded by the Russian Science Foundation (grant No 22-64-00076).



Компьютерные методы фенотипирования колоса пшеницы

Д. А. Афонников¹

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

ada@bionet.nsc.ru

Морфометрические характеристики колоса пшеницы являются одними из наиболее важных для генетиков и селекционеров, поскольку тесно связаны с такими хозяйственно ценными качествами, как продуктивность, отсутствие ломкости колоса и легкость обмолота. Для выявления генов, контролирующих данные признаки, используются статистические методы (QTL, GWAS), для успешности применения которых необходим сбор и анализ большого количества фенотипических данных. В настоящее время в большинстве исследований фенотипирование выполняется экспертами на основании визуального анализа колоса и измерений вручную, что является трудозатратным.

Нами были разработаны методы фенотипирования колосьев пшеницы на основе анализа двумерных изображений [1]. С их помощью проведена оценка морфологических характеристик пяти видов гексаплоидных пшениц. Показано достоверное межвидовое различие по ряду характеристик колоса. Проведено сравнение геометрических характеристик колоса у тетраплоидных и гексаплоидных видов [2].

Для анализа изображений колосьев были использованы методы глубокого машинного обучения. Это позволило определять наличие опушения чешуй на изображении колосьев [3], производить подсчет колосков и классификацию колосьев по плоидности растения (диплоидные, тетраплоидные и гексаплоидные).

Разработанные могут быть использованы для извлечения характеристик колосьев для описания растений из генетических коллекций в базах данных [4].

- [1] *Genaev M. A. et al* (2019) Morphometry of the Wheat Spike by Analyzing 2D Images // *Agronomy*, 9(7), 2019. 390 p.
- [2] *Пронозин А. Ю.* и соавт. (2021) Автоматическое фенотипирование морфологии колоса тетра- и гексаплоидных видов пшеницы методами компьютерного зрения // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 25, 71–81.
- [3] *Artemenko N. V. et al.* (2024) Image-based classification of wheat spikes by glume pubescence using convolutional neural networks // *Front. Plant Sci.* 14, 1336192.
- [4] *Генаев М. А.* и соавт. (2018) SpikeDroidDB — информационная система для аннотации морфометрических характеристик колоса пшеницы // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 22, 132–140.

Работа выполнена при поддержке РФФ, проект 23-14-00150.



Удвоенные гаплоиды vs Speed Breeding: что быстрее, проще и эффективнее?

А.О. Блинков¹, Е.В. Козарь², М.Алкубеси^{1 3}, В.М. Нагамова^{1 3}, Н.Ю. Свистунова¹, А.А. Кочешкова¹,
М.Г. Дивашук¹

¹ ФГБНУ ВНИИСБ, Москва

² ФГБНУ ФНЦО, ВНИИССОК

³ ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва

aoblinkov@gmail.com

Технология удвоенных гаплоидов (ДН) долгое время являлась единственным подходом, позволяющим селекционерам за один год массово получать чистые линии. «На смену» удвоенным гаплоидам в последние 5 лет приходит технология Speed Breeding (SB), позволяющая также быстро и массово получать чистые линии на основе классического самоопыления растений за счёт проведения 5–6 поколений за один год. В данной работе мы, на основе полученного опыта, даём сравнительную характеристику использования ДН и SB для подсолнечника, рапса, мягкой пшеницы и тритикале.

Опыт работы по подсолнечнику, несомненно, доказывает, что SB намного эффективнее ДН. Наши многолетние исследования по культивированию микроспор, пыльников и семяпочек позволили получить лишь единичные каллусы и эмбриониды, неспособные регенерировать в полноценные растения, в то время как SB позволяет провести полный цикл выращивания за 70–77 суток, в зависимости от генотипа, и перейти к следующему поколению.

Яровой рапс также отличается лёгкостью выращивания в SB, полный цикл можно провести в среднем за 70 суток, а чистую линию получить за чуть больше один год. Однако, по опыту работы ФНЦО, рапс является хорошо отзывчивым в культуре микроспор, у него отсутствует сильная генотипзависимость, он обладает высокой частотой формирования эмбрионидов из микроспор, регенерацией полноценных растений и высокой частотой спонтанного удваивания хромосом. В связи с чем, при наличии необходимой техники для работы, технологию ДН можно назвать более быстрой и эффективной, чем SB.

В культуре изолированных пыльников тритикале и мягкая пшеница формируют в среднем по генотипам 5,8 и 0,9 зелёных растений на колос, соответственно, что сравнимо с подходом SB, дополненным SSD-методом. Однако, среди ряда протестированных генотипов злаков, попадались два гибрида, формировавшие исключительно растения-альбиносы. Полный цикл получения ДН от посева донорных растений до уборки чистотелинейных семян составляет примерно 300 суток для яровых генотипов и 400 суток для озимых. А для SB полный цикл получения чистых линий составляет чуть больше года для яровых и два года для озимых. В связи с чем SB и ДН для злаков можно считать примерно сравнимыми подходами, отдавая приоритет в быстроте и качеству — ДН, а простоте и количеству — SB.



Генетический контроль биосинтеза флавоноидных пигментов у ржи *Secale cereale* L.

А.Н. Буланов¹, Е.А. Андреева², Н.В. Цветкова¹, П.А. Зыкин¹, А.В. Войлоков²

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9

² Институт общей генетики РАН, Россия, 119991, ГСП-1, Москва, ул. Губкина, д. 3

an.bulanov20002014@gmail.com

Флавоноидные пигменты — антоцианы и проантоцианидины, благодаря антиоксидантным свойствам, обладают высокой биологической активностью. Накопление окрашенных флавоноидов в вегетативных органах и наружных частях зерновки характерно для всех злаковых растений, но у большинства культурных злаков селекция шла на основе форм с неокрашенным зерном. С учётом оздоровительного эффекта зернового питания начаты интенсивные генетические исследования по созданию сортов злаков с высоким содержанием антоцианов. Рожь до последнего времени составляла исключение, несмотря на наличие уникального генетического материала (Смирнов, Соснихина, 1984). У ржи идентифицированы семь локусов, контролирующих накопление антоцианов, генетическим и физическим картированием нам удалось определить гены-кандидаты для пяти из них. Локусы *vi1* (7R), *vi2* (4R), *vi3* (3R) и *vi6* (2R) кодируют основные ферменты биосинтеза антоцианов — A53GT, ANS, DFR и F3H, соответственно. Нами установлено, что аллельные мутации *vi4* и *vi5* затрагивают ген *Vs*, кодирующий MYC транскрипционный фактор, отвечающий за биосинтез антоцианов в перикарпе зерновки. Биосинтез флавоноидов регулируется транскрипционными факторами семейств MYC, MYB и WD40, формирующими тканеспецифичные MBW-комплексы. Путём анализа опубликованных геномных и полученных нами транскриптомных данных у ржи удалось идентифицировать MBW гены биосинтеза флавоноидов, принадлежащие этим семействам (5 генов MYC, 6 генов MYB, 1 ген WD40) и являющиеся потенциальными регуляторами биосинтеза флавоноидов в зерновке и вегетативных органах. Особое внимание привлекает регуляторный ген *Vs*, представленный в нашей коллекции серией доминантных аллелей с различным эффектом на качественный и количественный состав антоцианов. Дальнейшие исследования открывают возможности для селекции форм ржи, обогащенных биологически активными соединениями и устойчивых к неблагоприятным условиям среды.

1. Смирнов В. Г., Соснихина С. П. Генетика ржи. — Л.: Изд-во ЛГУ, 1984. — 257 с.

Работа поддержана Министерством науки и высшего образования РФ в соответствии с соглашением № 075-15-2022-322 от 22.04.2022 о предоставлении гранта в виде субсидии из федерального бюджета РФ.



Расширение генетического разнообразия селекционного генофонда картофеля с использованием методов клеточной и хромосомной инженерии

Т.А. Гавриленко¹, Г.И. Пендинен¹, О.Ю. Антонова¹, Т.О. Макарова¹, Р.Тиме²

¹ ВИР, Санкт-Петербург

² JKI, Germany

tatjana9972@yandex.ru

Дикорастущие диплоидные мексиканские виды картофеля *Solanum bulbocastanum*, *Solanum pinnatisectum*, *Solanum tarnii* ($2n = 2x = 24$, геном ВВ) являются источником устойчивости к фитофторозу, галловым нематодам, ряду вирусов, тле, колорадскому жуку, абиотическим стрессорам. Эти виды относятся к третичному генпулу культурного картофеля *Solanum tuberosum* ($2n = 4x = 48$, геном АААА). Для преодоления пре- и постзиготической межвидовой несовместимости активно используются методы соматической гибридизации, однако до последнего времени возможности интрогрессии генетического материала В-геномных мексиканских видов в А геном *S. tuberosum* оставались неизвестными.

С использованием методов флуоресцентной гибридизации хромосом (GISH и FISH анализы) проанализированы соматические гибриды трех межвидовых комбинаций: *S. tuberosum* (+) *S. tarnii*, *S. tuberosum* (+) *S. bulbocastanum* и *S. tuberosum* (+) *S. pinnatisectum*, и их потомство из возвратных скрещиваний с культурным картофелем ВС₁-ВС₅ поколений (около 40 генотипов). Установлен геномный состав соматических гибридов и интрогрессивных форм поколений ВС₁-ВС₃ и отмечена элиминация хромосом В-генома у большинства проанализированных гибридов поколений ВС₄-ВС₅. Впервые с использованием методов молекулярной цитогенетики продемонстрирована возможность мейотической межгеномной рекомбинации хромосом А- и В-геномов у гибридов *S. tuberosum* и диких мексиканских видов *S. tarnii* и *S. bulbocastanum*.

У интрогрессивных форм разных поколений детектирован значительный уровень гомеологичного спаривания хромосом. В гибридном потомстве отобраны генотипы с рекомбинантными фрагментами хромосом, а также моносомные линии, у которых в мейозе выявлены гомеологичные ассоциации. Можно заключить, что, несмотря на быструю элиминацию хромосом В-генома в гибридном потомстве, потенциал гомеологичного спаривания и рекомбинации хромосом А- и В-геномов достаточно высокий, что указывает на перспективы использования выделенных генотипов в практической интрогрессивной гибридизации.

Часть материала, проанализированного в GISH/FISH анализах, была фенотипирована ранее немецкими коллегами в фитопатологических анализах. С использованием ДНК-маркеров, ассоциированных с генами, контролирующими устойчивость к широкому спектру рас *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary и устойчивость к галловым нематодам (*Meloidogyne* spp.) выделены генотипы с различными комбинациями этих генов, среди них гибридные формы с маркерами шести R-генов (*Rpi-blb1*, *Rpi-blb3*, *R3a*, *R3b*, *R8*, *RMc1(blb)*) от *S. bulbocastanum*.

Подробное описание состояния проблемы, список литературы и экспериментальные данные представлены в статье:

1. Gavrilenko, T.; Pendinen, G.; Antonova, O.; Makarova, T.; Thieme, R. *Agronomy* 2023, 13, 1809. <https://doi.org/10.3390/agronomy13071809>.



Аллельный состав генов, ассоциированных с хлебопекарными качествами, у сортов мягкой пшеницы Предуральской степной зоны

А. А. Галимова¹, Б. Р. Кулуев¹

¹ Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН

aiz.galimova@yandex.ru

Хлебопекарные качества зерна — важнейшие хозяйственно-ценные признаки мягкой пшеницы, зависят от функционирования большого числа генов. Для успешной маркер-ориентированной и геномной селекции мягкой пшеницы по хлебопекарным качествам необходимы знания о соответствующих генах, аллелях и мутациях в них. В обеспечении хлебопекарных качеств зерна мягкой пшеницы среди множества факторов наиболее значимыми являются гены белкового компонента (*gli*, *glu* и др.), углеводного компонента (*waxy* и др.) и гены комплекса ферментов амилаз (α -*amy*, β -*amy* и др.). Поэтому выявление аллелей этих генов является актуальной задачей для маркер-ориентированной и геномной селекции сортов мягкой пшеницы. Цель работы — генотипирование локусов *glu-1*, *waxy* и α -*amy* у сортообразцов мягкой пшеницы Предуральской степной зоны (ПСЗ). Материалы исследования — сорта и линии мягкой пшеницы, находящиеся в селекционной работе в условиях ПСЗ. Геномную ДНК выделяли с использованием ЦТАБ. Генотипирование образцов по гену *Glu-1* проводили с использованием 6; по гену *waxy* — 3; по генам α -*amy* — 10 пар праймеров. В ходе анализа выявлено, что по субгеному А у озимых сортообразцов преобладающим является аллель *a/c* (*Ax1/Ax-null*), у яровых — аллель *b* (*Ax2**). Известно, что субъединицы *Ax1* и *Ax2** (аллели *a* и *b*) оказывают положительное влияние на качество теста, а субъединица *null* (аллель *c*) — отрицательное. Генетический анализ выявил большой полиморфизм аллелей *Glu-B1*. При этом наиболее распространенными являются аллели *c* (*Bx7+By9*) и *b/al/c* (*Bx7+By8/8*/9*). Для *Glu-D1* выявлено, что наиболее часто встречающимся является состав субъединиц *Dx5+Dy10* (аллель *d*). Известно, что аллель *d* (*Dx5+Dy10*) локуса *Glu-D1* имеет выраженное положительное влияние на качество муки. По предварительным данным, исследуемые сортообразцы по субгеномам В и D несут аллели *a*, обуславливающие наработку функционального белка *Waxy*. Для субгенома А было выявлено, что 40,6% исследуемых сортов и линий несут аллель *a*, а остальные сорта — нуль-аллель *b*. На данном этапе для генов α -*amy* подобраны и испытаны геном-специфичные праймеры, которые в дальнейшем будут использованы в работе. Итак, генетический анализ генов *glu-1* и *waxy* у сортов мягкой пшеницы ПСЗ показал, что исследуемые сорта несут аллели, ассоциированные с отличными и хорошими хлебопекарными качествами.



Маркер-контролируемое получение и анализ антиоксидантной активности голозерных гибридов фиолетовозерной твердой пшеницы (*Triticum durum* Desf.) с полбой (*Triticum dicoccum* Schrank.)

Е.И. Гордеева¹, О.Ю. Шоева¹, К.А. Молобекова¹

¹ ИЦИГ СОРАН

elgordeeva@bionet.nsc.ru

Одним из перспективных направлений селекции является получение гибридов полбы с повышенным содержанием антоцианов в зерновке для производства полезных для здоровья продуктов из цельного зерна. Ранее, используя маркер-контролируемый отбор и последовательную двухступенчатую гибридизацию фиолетовозерной твердой пшеницы Tri15744 (*T. durum* Desf.) с двумя разными формами яровой полбы (*T. dicoccum* Schrank., син. *T. dicoccon* Schuebl.: голозерный сорт Гремме и безостая полба-двузернянка К-25516 из мировой коллекции ВИР), были получены фиолетовозерные полуголозерные гибриды с повышенным содержанием антоцианов в зрелых зерновках [1]. Основными недостатками созданных гибридных растений осталась неполная вымолачиваемость зерновки из цветковых и колосковых чешуй, признак ломкости колосового стержня и пониженная урожайность.

Для получения полностью голозерных форм три контрастных образца с высоким содержанием антоцианов бекроссировали с яровой голозерной полбой сорта Гремме в двух направлениях скрещивания. Процент удачных образцов был больше после скрещиваний при использовании полбяных гибридов в качестве материнского растения. Как известно, фиолетовая окраска зерна у тетраплоидных пшениц обусловлена комплементарным взаимодействием доминантных аллелей генов *Pp-B1* и *Pp3* (*Purple pericarp*), запускающих биосинтез антоцианов в перикарпе зерновки [1]. Отбор гомозиготных по генам антоциановой окраски форм проводили в поколениях F_2 и F_3 с помощью разработанных нами ранее внутривидных молекулярных ДНК маркеров *Pp1-diagnostic* и *Pp3-diagnostic*, которые, в отличие от широко используемых микросателлитных ДНК маркеров, позволили безошибочно отобрать образцы с целевыми генами [2]. Таким образом, был получен набор яровых голозерных фиолетовозерных гибридов полбы на основе фиолетовозерной тетраплоидной твердой пшеницы, накапливающей антоцианы в перикарпе. Полевую и лабораторную оценку полученных гибридов проводили в поколении F_4 . Линии различались как фенотипически (по скороспелости, безостости/остистости колоса, высоте и продуктивности растений), так и по суммарному содержанию антоцианов и антиоксидантной активности в зрелых зерновках. Содержание антоцианов у части полученных голозерных гибридов превышало родительские образцы, достигая значения у одного из позднеспелых образцов 474 мкг на 1 гр сухой массы. Данный образец имел и самую высокую антиоксидантную активность (метод DPPH). Наше исследование доказывает, что полученные нами голозерные полбяные гибриды обладают антиоксидантным потенциалом и могут стать ценным материалом для селекции коммерческих богатых антоцианами новых сортов твердой пшеницы и для производства функциональных продуктов питания.

[1] Стёпочкин П. И., Гордеева Е. И., Хлесткина Е. К. DOI: 10.30901/2227-8834-2023-2-1-10.

[2] Гордеева Е. И., Шоева О. Ю., Шаманин В. П., Хлесткина Е. К. DOI: 10.18699/LettersVJ-2023-9-11.

Исследование поддержано грантом РФФ 21-76-10024.



Создание целевых признаковых коллекций генетических ресурсов сельскохозяйственных растений и их использование в селекции

С.И. Гриб¹, И.С. Матыс¹

¹ РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию»

belgenbank@mail.ru

УДК 633./635.:631.52

Стратегией селекции сельскохозяйственных растений в Республике Беларусь, наряду с приоритетными направлениями повышения потенциала продуктивности и адаптивности к абиотическим и биотическим стрессам, улучшения качества продукции, предусмотрено создание сортов целевого назначения (Гриб С. И., 2018). В этой связи при создании Национального банка семян генетических ресурсов хозяйственно полезных растений РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию», который в настоящее время насчитывает более 51,6 тыс. коллекционных образцов, 47 культур, 356 родов, 702 видов, из которых 97% предназначены для производства продовольствия и сельского хозяйства, было предусмотрено формирование целевых признаковых коллекций на основе изучения мирового генофонда и селекционного материала.

В результате проведенной работы создано 116 признаковых коллекций по наиболее важным, приоритетным направлениям селекции сельскохозяйственных растений: две озимой ржи (*Secale* L.), сорок пять пшеницы (*Triticum* L.), четыре тритикале (*Triticosecale* Witt.), две ячменя (*Hordeum* L.), шесть овса (*Avena sativa* L.); пять кукурузы (*Zea mays* L.), четыре гороха (*Pisum sativum* L.); две люпина узколистного (*Lupinus angustifolius*); двадцать одна рапса (*Brassica napus* L.); четыре сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.); девять целевых признаковых коллекций кормовых культур и др. Целевые признаковые коллекции сельскохозяйственных растений сформированы как по отдельным, наиболее селекционно ценным признакам и свойствам, так и по их комплексному сочетанию. В Национальном банке семян осуществляется регистрация и паспортизация целевых признаковых коллекций, публикации каталогов с описанием и характеристикой показателей селекционно ценных признаков и свойств, проводится генетическая паспортизация образцов целевых признаковых коллекций методом ПЦР — анализа.

Использование целевых признаковых коллекций в селекционном процессе сельскохозяйственных растений обеспечило за последние десять лет создание в РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию» 140 сортов зерновых, зернобобовых, крупяных, масличных, кормовых культур, включенных в Государственные реестры Республики Беларусь и 46 сортов — Российской Федерации.



Создание и использование рекомбинантных синтетических форм для расширения генетического разнообразия мягкой пшеницы на основе генофонда диких сородичей

Р.О. Давоян¹, И.В. Бебякина¹, Э.Р. Давоян¹, В.А. Бибишев¹, А.С. Зинченко¹, Ю.С. Зубанова¹,
Д.М. Болдаков¹, В.И. Басов¹, А.А. Кресамова¹, Е.Д. Бадаева², Е.А. Салина³

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко», Краснодар, Россия

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН», Москва, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН», Новосибирск, Россия

davayan@rambler.ru

Создание и использование синтетических форм является эффективным методом для передачи ценных признаков диких сородичей мягкой пшенице. Синтетические рекомбинантные формы RS2 и RS3 (BBAASR), RS4 (BBAASNⁿ), RS5 и RS6 (BBAASD^t), RS7 (BBAASU), RS8 (BBAASS^l) были получены от скрещивания геномно-замещенной формы Авродес (BBAASS) с синтетиками Авроале (BBAARR), Авротата (BBAANN), *T. durum/Ae. tauschii* (BBAAD^tD^t), Авролата (BBAUUU) и Аврозис (BBAAS^{sh}S^{sh}). Предполагалось, что общие для всех форм геномы ВА, а также способность синтетика Авродес подавлять активность гена(ов) *Ph* и стимулировать гомеологичную конъюгацию хромосом, могут стать основой для существенных перестроек хромосом диких видов и мягкой пшеницы. С использованием созданных синтетических форм получено большое количество линий с устойчивостью к одной и более болезням, высоким содержанием белка, клейковины и другими ценными для селекции признаками. Цитологическим анализом определено, что генетический материал диких видов в изученных линиях представлен в виде как одиночных транслокаций и замещенных хромосом, так и их комбинаций. Методами C-banding и FISH установлено, что перестройки в основном затронули хромосомы D-генома. В четырех линиях идентифицированы чужеродные интрогрессии от двух видов одновременно. В линии 4626 определены транслокация T2DS.2DL-2UL от *Ae. umbellulata*, транслокации T7SS.7SL-7DL, T5BS.5BL-5SL и хромосомное замещение 1S(1B) от *Ae. speltoides*. Линия 3379 имеет транслокацию T7DL.7DS-7US от *Ae. umbellulata*, транслокации T1DS.1DL-1SL, T2DS.2DL-2SL, T5BS.5BL-5SL и замещение 4S(4D) от *Ae. speltoides*. Транслокации T5BS.5SL от *Ae. speltoides* и T5DL.5DS-5US от *Ae. umbellulata* были выявлены в линии 4938 p-17. Линия 5791n17 имеет замещенные хромосомы 6D^t(6D) от *Ae. tauschii* и 7S(7D) от *Ae. speltoides*. Приведенные транслокации и замещенные хромосомы, за исключением T5DL.5DS-5US, являются новыми. К новым также относятся транслокации на хромосомах 2A, 3D и 5D, полученные от *Ae. speltoides*. Новые интрогрессии свидетельствуют о возможности передачи нового гена(ов) устойчивости к болезням от этих видов мягкой пшенице. С использованием ДНК-маркеров проведено изучение полученных интрогрессивных линий на наличие генов устойчивости к листовой ржавчине (*Puccinia triticinia* Erikss.). Отобраны линии с комбинациями из 2-х и 3-х известных чужеродных генов, а также линии с не идентифицированными ранее генами устойчивости к этой болезни. С использованием синтетической формы RS2 к настоящему времени создан сорт озимой мягкой пшеницы Эрмитаж.



Изучение интрогрессивных линий мягкой пшеницы с применением ДНК-маркеров

Э.Р. Давоян¹, И.В. Бебякина¹, Р.О. Давоян¹, Д.М. Болдаков¹, Ю.С. Зубанова¹, А.Н. Зинченко¹,
В.И. Бавсов¹, А.А. Кресамова¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко», Краснодар
davoyanro@mail.ru

С применением ДНК-маркеров изучены интрогрессивные линии мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L), несущие генетический материал от дикорастущих видов. В результате проведенных исследований выявлено значительное генетическое разнообразие по аллельным вариантам генов, сцепленных с устойчивостью к листовой ржавчине *Lr*, контролирующим высоту растений *Rht*, кодирующих синтез амилозы в крахмале *Wx*, определяющих чувствительность к фотопериоду *Ppd D1* и яровизации *VRN-1*. У линий идентифицированы маркеры, сцепленные с известными генами устойчивости к листовой ржавчине (*Puccinia triticina* Erikss.). Установлено, что устойчивость к болезни может контролироваться как за счёт присутствия единичных эффективных на территории Краснодарского края генов *Lr9* от *Ae. umbellulata*, *Lr28*, *Lr35*, *Lr51* — *Ae. speltooides*, *Lr39* — *Ae. tauschii* и *Lr50* — *T. timopheevii*, так и комплексов генов. У большинства линий выявлены маркеры, сцепленные с утратившими эффективность генами *Lr10*, *Lr26*, *Lr34*, переданными от сортов реципиентов Гром, Кавказ и Безостая 1. У линий, полученных с участием синтетической формы *T. miguschovae* (GGAADD), выявлены образцы с геном *Lr18*, переданным в составе транслокации 5BS.5BL-5GL от *T. timopheevii*. Отобраны линии с мутантными аллелями генов короткостебельности *Rht-B1b*, *Rht-B1e*, *Rht-D1b* и *Rht8c*. У ряда линий наблюдалось отсутствие диагностических продуктов амплификации при идентификации генов *Wx-B1* и *Vrn-D1*. Вероятно, это связано с отсутствием соответствующей хромосомы мягкой пшеницы или её замещением на гомеологичную хромосому от дикорастущего вида. У *T. miguschovae*, Авродес (BBAASS) и линий 5512, 111, 2324, 1519 идентифицирован нетипичный для мягкой пшеницы аллель гена *Vrn-B1*. В линиях 1519, 2828 выявлен отличный от такового у мягкой пшеницы фрагмент амплификации размером около 150 п. н., предположительно эти образцы могут нести неизвестный аллель гена *Ppd-D1*. Изученные линии представляют интерес как исходный материал для селекции мягкой пшеницы.



Функциональный анализ роли ключевых генов морфогенеза корневой системы с использованием современных технологий генетического редактирования CRISPR-Cas

К.Н. Демченко¹, А.С. Кирюшкин¹, Е.Л. Ильина¹

¹ Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН

demchenko@binran.ru

Архитектура корневой системы растений определяется несколькими морфологическими параметрами, такими, как скорость роста родительских и боковых корней, плотность боковых корней и угол роста боковых или придаточных корней (Koevoets et al. 2016). Регуляция скорости роста и плотности боковых корней определяется скоординированным взаимодействием фитогормонов и транскрипционных факторов, а также неравномерным распределением минеральных веществ в почве (Motte et al. 2019; Lynch. 2022). Однако механизмы, задействованные в формировании угла роста боковых или придаточных корней, остаются недостаточно изученными. Ранее было идентифицировано два гена, *DEEPER ROOTING 1 (DRO1)* и его паралог *DRO1-like1 (OsDRL1)*, определяющих повышение урожайности риса (*Oryza sativa*) в условиях засухи. Экспрессия этих генов необходима для формирования определённого угла роста корневой системы риса путём запуска гравитропической реакции в кончиках придаточных корней. Для выяснения роли генов *DRO* у огурца в процессе формирования угла роста боковых корней огурца нами была модифицирована система CRISPR/Cas9-опосредованного редактирования генома огурца, обеспечивающая редактирование одиночных и множественных генных последовательностей, что позволяет также ускорить создание новых селекционных форм (Kiriyushkin et al. 2024). Несмотря на разнообразие и значительное различие в типах ветвления корневых систем, существует ряд общих молекулярных механизмов и регуляторных генетических модулей, определяющих компетенцию отдельных клеток корня к образованию бокового корня. В докладе будут рассмотрены пути формирования этих генетических модулей в ходе эволюции растений. Особое внимание будет уделено роли транскрипционных факторов GATA, LBD и др. в единой координации ветвления корня, а также малым сигнальным пептидам RALF и CEP в системной регуляции этого процесса. У большинства растений боковые корни возникают выше зоны растяжения, однако существует группа неродственных семейств (Тыквенные, Гречишные, водные однодольные и др.), для представителей которых характерна инициация примордиев боковых корней непосредственно в меристеме родительского корня (Irina et al. 2012). Такой тип инициации бокового корня приводит к быстрому ветвлению корневых систем. В докладе будет критически рассмотрен состав генетических модулей при различных типах образования бокового корня и различия в их регуляции, а также пути их формирования в ходе эволюции растений. Кроме того, мы попытаемся определить, как понимание генетического контроля архитектуры корневой системы может способствовать направленному изменению сельскохозяйственных культур. Изучение этих механизмов у двудольных растений является важной составляющей при реализации программы устойчивого развития сельского хозяйства.

1. Irina E. L., Logachov A. A., Laplaze L., Demchenko N. P., Pawlowski K., Demchenko K. N. Composite *Cucurbita pepo* plants with transgenic roots as a tool to study root development // *Annals of Botany*. 2012. V. 110, № 2. P. 479–489.
2. Kiriyushkin A. S., Irina E. L., Kükova T. Y., Pawlowski K., Demchenko K. N. Do DEEPER ROOTING 1 homologs regulate the lateral root slope angle in Cucumber (*Cucumis sativus*)? // *International Journal of Molecular Sciences*. 2024. V. 25, № 4. P. 1975.
3. Koevoets I. T., Venema J. H., Elzenga J. T. M., Testerink C. Roots withstanding their environment: exploiting root system architecture responses to abiotic stress to improve crop tolerance // *Frontiers in Plant Science*. 2016. V. 7, № 1335. P. 1–19.
4. Lynch J. P. Harnessing root architecture to address global challenges // *The Plant Journal*. 2022. V. 109, № 2. P. 415–431.
5. Motte H., Vanneste S., Beeckman T. Molecular and environmental regulation of root development // *Annual Review of Plant Biology*. 2019. V. 70, № 1. P. 465–488.

При поддержке Минобрнауки РФ (БРК, соглашение № 075-15-2021-1056).



Прикладные геномные технологии в моделировании основных агрономических свойств у зерновых

М.Г. Дивашук¹

¹ ФГБНУ ВНИИСБ Москва

divashuk@gmail.com

ДНК-маркеры и современные способы секвенирования и позволяют масштабировать генотипирование растений. Однако ряд несовершенств этих инструментов в отдельных случаях не позволяет их использовать для массового анализа. Например, у маркеров — из-за их доминантности или неспецифичности, у секвенирования — из-за ошибок при сборках. С ростом масштабности падает точность анализа, в растущем информационном потоке падает достоверность и точность информации. Таким образом, выявление и исправление недостатков этих инструментов — это путь к интенсификации генотипирования. Интенсификация генотипирования позволяет увеличивать объём анализируемого материала при увеличении точности и достоверности, а значит находить и идентифицировать больше аллелей, узнать больше о распространении аллелей ценных генов, найти редкие и новые аллели. Цель современного массового генотипирования для нужд селекции — минимизация усилий при увеличении качества и количества получаемой информации о генотипе.

Для интенсификации генотипирования растений с помощью маркеров для нужд селекции необходимы следующие шаги:

- отбор ПЦР-маркеров должен осуществляться по следующим критериям: воспроизводимость, функциональность (в противовес сцепленности), кодоминантность (в противовес доминантности), простота в использовании, эффективность (минимум шагов при максимуме достоверной извлекаемой информации), универсальность для растительного материала (germplasm);
- специфичность для аллелей;
- необходимо осуществлять предварительную *in silico* и *in vitro* валидацию и верификацию ПЦР-маркеров;
- если маркер не удовлетворяет критериям, необходимо его улучшение на основе полноразмерных нуклеотидных последовательностей генов или разработка собственных маркеров.

Следуя изложенным подходам, нами были достигнуты следующие результаты в рамках применения генотипирования для селекции:

- сформулированы критерии отбора молекулярных маркеров для определения аллельного состояния хозяйственно-ценных генов зерновых культур на примере маркеров для поиска нуль-аллелей гена GBSS I (Wx) пшеницы;
- разработаны алгоритмы валидации и верификации молекулярных маркеров для определения аллельного состояния хозяйственно-ценных генов зерновых культур на примере KASP-маркеров на хозяйственно-ценные признаки пшеницы; разработан кодоминантный маркер на ген низкостебельности Ddw1 ржи, который может быть использован для маркер-опосредованного отбора ржи и тритикале;
- разработана кодоминантная специфичная система маркеров на аллель низкостебельности Rht-B1p пшеницы;
- разработаны алгоритмы секвенирования отдельных генов путём последовательного использования Illumina и сэнгеровского секвенирования; разработан способ выявления событий редактирования генов GBSSI, ISA1, RSR1, SSIIa и SBEIIa у зерновых.



Теоретические и практические аспекты цитоплазматической мужской стерильности овощных культур

А.С. Домблидес¹, Е.А. Домблидес²

¹ ФГБНУ Федеральный научный центр овощеводства, п. ВНИИССОК, Одинцовский район

² ФГБНУ Федеральный научный центр овощеводства

arthurdom@inbox.ru

Цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС) у растений известна уже давно и обнаружена у более чем 610 видов растений. Часто ЦМС появляется в результате рекомбинаций в митохондриальном геноме с появлением новых открытых рамок считывания, приводящих к недоразвитию пыльцевых зёрен. Образующиеся в результате изменённой трансляции белковые молекулы влияют на нормальный ход процесса развития микроспорогенеза. Кроме того, ядерные гены также оказывают прямое влияние на степень проявления данного признака. Изучение признака ЦМС не только раскрывает биологические механизмы взаимодействия генов, но и даёт возможность применения при производстве гетерозисных гибридов F₁. Однако необходимо учитывать, что у различных видов растений имеются свои генетические особенности. Разработка систем ДНК — маркирования значительно упрощают и ускоряют поиск растений кандидатов для стерильных линий и линий закрепителей стерильности. У капустных культур (Brassicaceae) наиболее распространённые типы стерильности — *Ogura*, *Polima*, *Napus*, которые определяются соответствующими генами митохондрий *orf138-atp8*, *orf224-atp6* и *orf222-nad5corf139*. У моркови (*Daucus carota* L.) известно два основных типа мужской стерильности, морфологически проявляющиеся в темных коричневых пыльниках — тип браун, и в видоизменённых в лепестки пыльниках — тип петалоид. Мужская стерильность петалоид нашла большее распространение в селекции по причине стабильности в проявлении при воздействии внешних факторов, например температуры. Одна из причин, вызывающих мужскую стерильность типа петалоид, вызвана перестановками в митохондриальном геноме, затрагивающими ген *orfB*. Мужская стерильность у лука (*Allium cepa* L.) определяется взаимодействиями между цитоплазмой и ядром, где в ядре присутствует ген-восстановитель, имеющий две аллели Ms и ms, тогда как в цитоплазме находятся факторы N (норма) или S-стерильность, R-стерильность. У лука была также обнаружена наиболее сходная с N-типом цитоплазма T-типа, генетический анализ которой показал, что она отличается полиморфизмом в митохондриальных генах *sob* и *orfA501*. Эти типы мужской стерильности сегодня используют для получения гибридов F₁, однако стерильность S-типа используют шире, потому что цитоплазма T-типа не всегда отличается стабильностью проявления в поколениях.



Генотипирование и поиск ДНК-маркеров стрессоустойчивости мягкой пшеницы Предуральской степной зоны

Е. А. Заикина¹, Б. Р. Кулуев¹

¹ Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН г. Уфа, Россия

evisheva@yandex.ru

Засуха и гипотермия являются одними из основных факторов окружающей среды, отрицательно влияющие на рост сельскохозяйственных культур, а выведение устойчивых сортов является одним из наиболее экономичных и эффективных способов повышения урожайности и обеспечения устойчивого сельскохозяйственного производства в условиях стресса. Целью исследования является определение роли защитных генов мягкой пшеницы в устойчивости растений к низким положительным температурам и в устойчивости к засухе. В работе используются сорта и линии мягкой пшеницы, находящиеся в селекционной работе в Предуральской степной зоне. Был проведен анализ генов *TaNAC69*, *TaDREB1* и *TaWRKY19*. Для оценки содержания транскриптов исследуемых генов растения подвергали засухе — 5 и 10 суток и гипотермии при +5°C 20 часов, а также 0°C — 4 часа. Тотальная РНК из молодых листьев пшеницы была выделена при помощи тризола. Для поиска мутаций ДНК из листьев пшеницы выделяли стандартным ЦТАБ методом. Далее подбирали праймеры, амплифицировали фрагменты открытых рамок считывания исследуемых генов и определяли нуклеотидные последовательности методом автоматического капиллярного секвенирования. У большинства изученных сортообразцов мягкой пшеницы, как при засухе, так и при гипотермии, происходило увеличение содержания транскриптов гена *TaNAC69*. Ген *TaDREB1* наилучшим образом откликнулся на гипотермию, что соотносится с литературными данными. Транскрипционная активность гена *TaWRKY19* под воздействием обеих стрессовых факторов то возрастала, то падала, без каких-либо закономерностей. Были выявлены две значимые SNPs замены одна в гене *TaDREB1*, вторая в гене *TaWRKY19*. Замена в положении 866 в гене *TaDREB1* была ассоциирована с параметром «зимостойкость». Замена в положении 587 в гене *TaWRKY19* была, вероятно, связана с засухоустойчивостью и зимостойкостью.

Из всех предложенных генов транскрипционных факторов ген *TaNAC69* может быть использован в маркер-ориентированной селекции на засухоустойчивость, а ген *TaDREB1* — как маркер холодоустойчивости. Таким образом, для каждого из генов *TaWRKY19* и *TaDREB1* было выявлено только по одному предполагаемому SNP-маркеру, потенциально связанному с устойчивостью к засухе и холодоустойчивостью.



Направленная модификация гена *HvMyc2*, связанного с голубой окраской зерна ячменя

Т.Е. Зыкова^{1 2}, А.А. Егорова^{1 2 3}, О.Ю. Шоева^{1 2 3}, К. Хертиг⁴, С.В. Герасимова^{2 3}, И. Коэппель⁴,
Ш. Хикель⁴, А.М. Короткова^{2 3}, И. Кумлен⁴, Е.К. Хлесткина^{1 2 3}

¹ НГУ, Новосибирск, Россия

² Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

³ ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

⁴ Институт генетики растений и исследований сельскохозяйственных культур им. Лейбница, Гатерслебен, Германия

t.zykova@g.nsu.ru

Сочетание и количество пигментов в оболочках зерен злаков определяет их окраску. Так, накопление антоцианов в алейроновом слое придает зерновкам ячменя (*Hordeum vulgare* L.) голубой цвет. В исследованиях *in vitro* и *in vivo* была показана антиоксидантная активность антоцианов и их участие в регуляции множества метаболических реакций. Данные свойства обуславливают повышенную пищевую ценность богатых антоцианами зерен злаков. В связи с чем актуальной задачей биотехнологии растений является получение форм ячменя с высоким содержанием антоцианов в оболочках зерен.

Ранее в геноме ячменя был выявлен ген *HvMyc2*, контролирующий образование голубого пигмента в алейроновом слое зерновок посредством активации транскрипции структурных генов биосинтеза антоцианов [1]. При этом у неокрашенных генотипов в данном гене была выявлена однонуклеотидная инсерция, вызывающая сдвиг рамки считывания и образование раннего стоп-кодона. Цель работы состояла в восстановлении рамки считывания гена *HvMyc2* в неокрашенном сорте ячменя путем внесения небольших делеций в целевой участок с использованием РНК-направленной эндонуклеазы Cas9.

Были получены две генетические конструкции, содержащие ген нуклеазы Cas9 и направляющую РНК к одному из двух целевых участков в кодирующей области гена *HvMyc2*. Активность конструкций была протестирована на протопластах ячменя, затем в результате агробактериальной трансформации незрелых зародышей сорта Golden Promise, имеющего неокрашенные зерновки, были получены мутантные растения. В поколении T0 было выявлено 49 растений с мутациями, 8 из них было использовано для дальнейшего отбора в поколениях T1-T4. В поколении T4 получены две линии с *HvMyc2* дикого типа, по одной — с делецией 4 п. н. в первом или втором целевом сайте, делецией 11 п. н., а также четыре линии с делецией 1 п. н. У растений с мутациями, приводящими к восстановлению рамки считывания *HvMyc2* (делеция 1 и 4 п. н.), были выявлены отличия в накоплении антоцианов от других линий, что подтверждено с помощью световой микроскопии, биохимического анализа и анализа экспрессии генов биосинтеза антоцианов.

- [1] Strygina K. V., Börner A., Khlestkina E. K. Identification and characterization of regulatory network components for anthocyanin synthesis in barley aleurone // BMC Plant Biol. 2017;17(1):184. DOI 10.1186/s12870-017-1122-3.

Исследование поддержано грантом РФФ № 21-66-00012.



Защитные ответы растения, индуцируемые внешней обработкой листьев антивирусной двуцепочечной РНК

Н.О. Калинина^{1, 2}, В.О. Самарская¹, Н.А. Спеченкова¹, И.Ю. Ильина¹, М.Э. Тальянский¹

¹ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук
(ИБХ РАН), Москва

² НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова, Москва

kalinina@belozersky.msu.ru

Изучены защитные ответы растений картофеля, индуцируемые экзогенной обработкой листьев двуцепочечной РНК, комплементарной фрагменту последовательности геномной РНК Y-вируса картофеля (YVK) (дцРНК_{YVK}). Опрыскивание листьев растений дцРНК — подход, названный «подавление генов, индуцированное опрыскиванием» (spray-induced gene silencing, SIGS), как общепризнано, индуцирует в растениях механизм РНК интерференции (РНКи), специфичный относительно комплементарной РНК. Действительно, в обработанных растениях (незараженных или инфицированных YVK) наблюдается накопление малых интерферирующих РНК, маркера РНКи, специфичных РНК YVK, а при вирусной инфекции показано подавление репликации РНК YVK. Обработка незараженных растений дцРНК_{YVK} также сопровождается заметным усилением экспрессии ряда генов, относящихся к неспецифическому паттерн-индуцированному иммунитету (pattern-triggered immunity, PTI), и значительным накоплением каллозы. Интересно, что при вирусной инфекции эти два механизма (РНКи и PTI), вероятно, конкурируют друг с другом за дцРНК, что приводит к супрессии PTI и выражается в заметном снижении уровня экспрессии соответствующих генов и отложения каллозы. Предполагается, что DCL нуклеазы, активирующиеся при РНКи, разрезают дцРНК, препятствуя ее участию в индукции PTI. В результате дцРНК_{YVK} не оказывает негативного эффекта на накопление неродственного вируса XVK. Еще один эффект дцРНК на ответ растения состоит в значительном увеличении уровня экспрессии гена, кодирующего поли(АДФ-рибоза) гликогидролазу (PARG), ключевого белка метаболизма поли(АДФ-рибозы), который считается позитивным регулятором ответа на биотический стресс, что приводит к снижению скорости парилирования белков. В условиях вирусной инфекции уровень экспрессии гена PARG также возрастает, но в меньшей степени.

Таким образом, обработка дцРНК запускает в растении ряд защитных механизмов, включая специфическую РНКи как основной механизм защиты от вирусов, и дополнительные стратегии защиты, основанные на PTI и парилировании. Важно отметить, что применение дополнительных компонентов в качестве платформ для защиты дцРНК от внешних факторов или для оптимизации ее доставки в клетки растения также вносит вклад в индукцию защитных ответов растения. Так использование при опрыскивании комплексов дцРНК с наночастицами хитозана показало, что хитозан не оказывает стимулирующего действия на РНКи, но, вероятно, сам обладает антивирусным действием, что, возможно, обусловлено активацией сигнального пути жасмоновой кислоты. Кроме того, хитозан пролонгирует антивирусное действие дцРНК, видимо, защищая ее от деградации на поверхности листа. Таким образом, для применения технологии защиты растений от вирусов с использованием дцРНК необходимо понимание действия значительного числа факторов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 23-74-30003.



Качество зерна мягкой (*T. aestivum* L.) и твердой (*T. durum* Desf.) пшеницы в различных экологических условиях

И.Н. Леонова¹, П.Н. Мальчиков², А.А. Киселева¹, О.А. Орловская³, В.В. Пискарев¹, Е.А. Салина¹

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН

² Самарский НИИСХ им. Н.М. Тулайкова – филиал СамНЦ РАН

³ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси

leonova@bionet.nsc.ru

Сохранение и расширение генетического разнообразия пшеницы по генам хозяйственно важных признаков является одной из важных задач селекции при создании новых адаптивных сортов. Целью данной работы являлось сравнительное исследование образцов мягкой (*Triticum aestivum* L.) и твердой (*T. durum* Desf.) яровой пшеницы по содержанию белка, клейковины и микроэлементов в зерне. В работе были использованы коллекции современных и стародавних сортов, селекционных линий и рекомбинантных инбредных линий мягкой и твердой пшеницы российской и белорусской селекции. Выращивание сортообразцов для оценки признаков качества проводилось в экологических условиях двух регионов России (Самарская и Новосибирская области) и в Республике Беларусь в 2016–2023 гг. Сравнительный анализ многолетних данных показал, что сорта мягкой пшеницы в среднем значительно уступают твердой пшенице по содержанию белка, независимо от региона выращивания. Содержание клейковины варьировало в диапазоне 24–35% и 34–47% в зерне сортов мягкой и твердой пшеницы соответственно. Исключение составляли рекомбинантные линии мягкой пшеницы, содержащие генетический материал от *T. durum*, *T. dicoccum* и *T. timopheevii*, содержание клейковины у которых было сравнимо с твердой пшеницей. С использованием коллекции сортов и рекомбинантных линий мягкой пшеницы, полученных с участием дикорастущих видов *Triticum*, проведено картирование генетических локусов, влияющих на признаки качества. Полногеномный анализ выявил стабильные QTNs, ассоциированные с содержанием белка и клейковины в хромосомах 1D, 2A, 2B, 6A, 5A, 7A и 7B, при этом в хромосоме 6A определен район, отвечающий за оба признака. Новые эффективные локусы, связанные с повышенным содержанием железа и цинка в зерне, обнаружены в местах локализации фрагментов *T. durum*, *T. timopheevii* и *T. kiharae* в хромосомах 5A и 5B рекомбинантных линий. Образцы, содержащие комплекс генетических факторов для признаков качества, могут быть использованы в качестве ценного материала в селекционных программах.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (проект № 23-16-00041, <https://rscf.ru/project/23-16-00041>).



Редактирование генома тритикале с использованием технологии CRISPR/Cas9

Д.Н. Мирошниченко^{1, 2}, В.Р. Тимербаев^{1, 2}, М.Г. Дивашук¹, А.С. Пушин^{1, 2}, П.Ю. Крупин¹,
М. Самарина¹, А. Ермолаев¹, Г.И. Карлов¹, С.В. Долгов^{1, 2}

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва

² Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пущино

miroshnichenko@bibch.ru

Редактирование генома растений путем внесения специфических модификаций, таких, как замена, вставка или делеция нуклеотидов или отдельных последовательностей, может ускорить создание новых форм и сортов сельскохозяйственных культур. С использованием CRISPR/Cas9 подхода нами успешно разработана биотехнология редактирования генома гексаплоидной тритикале — важной зерновой культуры. Тритикале (\times *Triticosecale*) представляет собой гибрид ржи (*Secale*) и пшеницы (*Triticum*), геном которого состоит из трех субгеномов (AA, BB и RR). Четыре гена (*GBSSI*, *SSIIa*, *ISAI* и *RSR1*), участвующих в биосинтезе крахмала в зерне, были выбраны в качестве мишеней для мутагенеза. Для достижения редактирования каждого гена-мишени подобрали три направляющих РНК (sgRNA), чтобы обеспечить эффективное сайт-направленное редактирование во всех субгеномах. Для одновременного редактирования 36 генетических локусов (три sgRNA четыре гена три субгенома) сконструировали экспрессионную кассету в виде массива из двенадцати sgRNA и переносили в регенерирующие ткани тритикале с помощью генной пушки. Генотипирование растений-регенерантов показало, что эффективность редактирования генов составила 43–46% в двух коммерческих сортах, при этом явных различий в эффективности редактирования между локусами субгеномов А, В и R не наблюдали. Большинство индуцированных мутаций представляли собой незначительные делеции (1–4 нуклеотида); также присутствовали протяженные делеции (до 283 нуклеотидов) между соседними целевыми сайтами у различных мутантов. После самоопыления первичных мутантных растений идентифицировали гомозиготные суб-линии M_1 , несущие шесть модифицированных аллелей каждого из генов-мишеней. Зерна мутанта 19В несущего моно- и биаллельные мутации в трех субгеномных копиях гена гранулированной синтазы крахмала *GBSSI* демонстрировали нокаутный фенотип, характерный для семян со значительным снижением содержания амилозы. Разработанная нами система CRISPR/Cas9-опосредованного редактирования генома тритикале, которая обеспечивает редактирование одиночных и множественных геномных последовательностей, позволит ускорить создание новых селекционных форм, а также поможет сократить трудоемкое и долговременное пирамидирование желаемых аллелей/признаков при получении перспективных линий с новыми мутациями, обеспечивающими изменение состава и качества крахмала в зерне.

Исследования выполнены при поддержке «КГЦ — ВНИИСБ» (договор № 075-15-2019-1667).



Поиск локусов, ассоциированных с продолжительностью вегетационного периода сои в условиях Центральной России и Западной Сибири

Р. Н. Перфильев¹, Д. А. Потапов², К. В. Максименко², С. В. Кирюхин³, С. О. Гуринович³, В. И. Панарина³,
Р. И. Полюдина², Е. А. Салина⁴

¹ ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук, Новосибирск, Россия

³ ФГБНУ Федеральный научный центр зернобобовых и крупяных культур, Орел, Россия

⁴ Курчатовский геномный центр, Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук,
Новосибирск, Россия

pervf.1999@gmail.com

Вегетационный период — главный лимитирующий фактор, ограничивающий возможность возделывания сортов сои в пределах определённого диапазона широт. За последнее десятилетие был достигнут значительный успех в генетике вегетационного периода сои. Были определены белок-кодирующие последовательности и функциональные нуклеотидные замены не только для ключевых генов *E1-E4*, но также и для других локусов, ассоциированных с данным признаком, к примеру, *E11b*, *Tof4*, *Tof5*, *Tof8* и *Tof18*. Тем не менее поиск новых локусов и генов остаётся актуальной задачей для дальнейшего улучшения данной культуры. В нашей работе, с помощью полногеномного поиска ассоциаций, мы обнаружили 32 SNPs, ассоциированных с продолжительностью цветения и созревания сои в условиях Орловской и Новосибирской области. В результате приоритизации генов-кандидатов, мы выделили два гена как наиболее интересные для дальнейшего изучения *GmSPL3* (*SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE 3*) и *COL1b* (*CONSTANS Like 1b*). Первый ген контролирует цветение у арабидопсиса в зависимости от внешней температуры. Для второго гена, ранее показана функциональная роль в контроле времени цветения у сои, однако об ассоциации между его естественной изменчивостью и вегетационным периодом ещё не сообщалось.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект РНФ № 21-76-30003).



Эволюция принципов и методов селекции озимой ржи

М.Л. Пономарева¹, С.Н. Пономарев¹

¹ *ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН*

smponomarev@yandex.ru

Озимая рожь — многоцелевая культура, широко используемая в хлебопечении, производстве кормов для сельскохозяйственных животных, а также спирта и биотоплива. Функциональность ржи в этих сферах обусловлена ее устойчивостью к абиотическим и биотическим стрессам и уникальным биохимическим составом. Возделывание озимой ржи в Российской Федерации испытывает серьезные трудности, обусловленные недооценкой злака и сложившимся в последние годы положением минорной зерновой культуры. В 2023 году площади озимой ржи в РФ составили 831 тыс. га, что является абсолютным минимумом за последние 30 лет. Специфика принципов и методов селекции в ржесеющих странах, включая Российскую Федерацию, обусловлена особенностями климатических условий, плодородия почв и национальными традициями потребителей. Основными принципами российской селекции на ближайшие годы остаются адаптивность к неблагоприятным абиотическим и биотическим факторам, повышение урожайности, целевое использование конечного продукта и его высокое качество. С развертыванием гибридной селекции в конце XX века отмечен быстрый прогресс в урожайности культуры. Генетическую основу гибридной системы составляют самофертильность, цитоплазматическая мужская стерильность, гетеротические группы и устойчивость к инбридингу. Работа в этом направлении привела ведущих производителей озимой ржи в Европе к замене традиционных популяционных сортов на гибриды F₁ на 70% площадей, тогда как в РФ селекционные программы преимущественно нацелены на создание популяционных сортов. В селекции ржи для формирования нового генетического фонда используются три основных метода: массовый и семейный отбор в существующих популяциях, рекомбинация и индуцирование мутаций. Новые технологии, включая ДНК маркеры, рекуррентную селекцию, создание коммерческих инбредных линий и высокопроизводительное фенотипирование, стали быстро внедряться в селекционный процесс. Геномная схема селекции, в отличие от маркерной, является более предпочтительной методологией быстрого улучшения количественных признаков растений озимой ржи. Интеграция современных технологий с традиционными методами селекции ржи позволила значительно ускорить время от получения первого гибрида до выпуска сорта, сохраняя при этом рост средней урожайности и улучшая другие хозяйственно ценные признаки.



Генетические детерминанты узорчатой древесины карельской березы (*Betula pendula* var. *carelica*)

Е.К. Потоккина¹, А.В. Жигунов¹, Л.В. Ветчинникова², Д.С. Каржаев¹, Р.Ф. Губаев¹, Е.А. Григорьева¹, В.А. Волков¹

¹ Санкт-Петербургский Государственный Лесотехнический Университет (СПбГЛТУ)

² Карельский научный центр Российской академии наук (КарНЦ РАН)

e.potokina@skoltech.ru

Узорчатая древесина карельской березы используется в производстве мебели и интерьерных элементов, ее уникальность и декоративные качества определяют ее высокую стоимость. Возможность плантационного выращивания карельской березы вызывает большой интерес со стороны промышленности. Проблема состоит в том, что даже при контролируемом опылении деревьев с явно выраженной узорчатой древесиной в семенном потомстве наблюдается расщепление по этому признаку. При этом визуальное проявление «узорчатости» можно ожидать у деревьев не ранее 8–10-летнего возраста. Эффективные методы ранней диагностики «узорчатости» у деревьев карельской березы представляют большой практический интерес.

Вопрос наследования и генетического контроля узорчатой текстуры древесины у карельской березы дискутируется с начала прошлого века. Однако только недавно были опубликованы экспериментальные свидетельства о том, что признак узорчатой древесины может быть моногенным. Современные высокопроизводительные технологии генотипирования (GBS) и разработанные алгоритмы поиска полногеномных ассоциаций (GWAS) позволили сделать следующий шаг в изучении молекулярно-генетических механизмов формирования фенотипа узорчатой древесины у карельской березы.

Нами было проанализировано 192 дерева с «узорчатым» и «безузорчатым» фенотипом, полученные от скрещивания двух пар карельских берез, и выявлено 37,045 полиморфных SNP-маркеров, которые были использованы для дальнейшего анализа популяционной структуры изучаемой выборки. Был проведен поиск ассоциаций между фенотипом «узорчатость древесины» и выявленными SNP-маркерами, при этом все SNP, достоверно ассоциированные с признаком, оказались локализованы в едином интервале хромосомы 10, протяженностью 1,2 млн пар нуклеотидов, где предположительно располагаются гены-кандидаты, отвечающие за формирование узорчатой древесины.

В процессе валидации одного из выявленных SNP-маркеров (S10_3465040), объясняющего самый высокий процент наблюдаемой изменчивости (56,28%), была обнаружена делеция в 54 п.н., которая эффективно детектировалась с помощью простой ПЦР, и в изучаемой выборке оказалась сцепленной с фенотипом «узорчатости». Для 174 деревьев из 190, тестированных с помощью ПЦР на наличие этой делеции (92%), маркерная диагностика совпала с фенотипической оценкой. Это первый молекулярный маркер, предложенный для выявления генотипов карельской березы на ранних стадиях развития.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-16-00096.



Разработка набора SSR-маркеров для генетической паспортизации яровой мягкой пшеницы

М. А. Самарина^{1 2 3}, Д. С. Ульянов^{1 2}, А. С. Ермолаев^{1 2}, П. Ю. Крупин^{1 2}, С. И. Воронов², Н. В. Давыдова²,
Г. И. Карлов¹, М. Г. Дивашук^{1 2 3}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Немчиновка», Москва

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева», Москва
samarina.homa@yandex.ru

Поддержание сортовой чистоты такой стратегически важной сельскохозяйственной культуры, как пшеница, является одной из приоритетных задач семеноводства. Однако для поддержания и сохранения сорта принятых для контроля отличимости, однородности и стабильности морфологических признаков может быть недостаточно. Решением этой проблемы может быть создание паспортов на основе полиморфизма микросателлитных локусов. Создание базы таких сортовых паспортов позволит не только достоверно дифференцировать сорта между собой в процессе семеноводства, но и в ходе селекции подбирать наиболее интересные комбинации генетически удаленных родительских форм для скрещивания.

Для разработки набора дискриминирующих маркеров нами была создана база из 275 известных уникальных микросателлитных локусов с рекомендованными праймерами [1, 2], которые были проанализированы методом *in silico* ПЦР на аннотированных сборках генома *Triticum aestivum* из базы NCBI GenBank. Для дальнейшего анализа были отобраны те маркеры, для которых был получен единственный продукт амплификации длиной менее 450 п.н. для каждой из сборок генома. Для выбора наиболее информативных маркеров был применен алгоритм RFE (Recursive Feature Elimination). Отобранные на этапе биоинформатического анализа SSR-локусы пары праймеров были оценены по ряду параметров (температура отжига, GC-состав, наличие неспецифичного отжига, димеры праймеров) и модернизированы для дальнейшего объединения в мультиплексной ПЦР.

Выделение ДНК проводили с помощью станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот Auto-Pure 96 (Allsheng, Китай) набором «МагноПрайм ГМО» (Интерлабсервис, Россия) согласно протоколу производителя. ПЦР-амплификацию осуществляли по одному для всех пар праймеров режиму в стандартной ПЦР-смеси (Mg²⁺ 2.5мМ, dNTP 0.25мМ). Продукты амплификации визуализировали методом капиллярного электрофореза с помощью генетического анализатора Нанофор05 (ИАП, Синтол, Россия).

По результатам работы нами были разработан биоинформатический алгоритм для анализа и отбора молекулярных маркеров, а также сформирован минимальный дискриминирующий набор из 16 SSR-маркеров для дифференциации образцов мягкой пшеницы. Отобранные маркеры показали высокую специфичность при индивидуальном тестировании, что позволило использовать их в мультиплексной ПЦР и апробировать на коллекции мягкой яровой пшеницы.

[1] Röder M. S. et al. A microsatellite map of wheat // Genetics. Oxford University Press, 1998. Vol. 149, № 4. P. 2007–2023.

[2] Митрофанова О. et al. Генетическая дифференциация гексаплоидной пшеницы по данным анализа микросателлитных локусов // Генетика. Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российская академия наук», 2009. Vol. 45, № 11. P. 1530–1539.

Исследование было проведено при финансовой поддержке Государственного задания № FGGE-2023-001.



Адаптация трансгенных растений-иммуномодуляторов для применения в животноводстве

В.Д. Тимонин¹, М.С. Бурлаковский¹, К.П. Чернов¹, Е.С. Окулова¹, Д.Р. Аглиуллина¹, Л. А. Лутова¹,
М.В. Падкина¹

¹ СПбГУ, Санкт-Петербург

ihtizavr@yandex.ru

Интерфероны применяются для профилактики и лечения заболеваний как бактериальной, так и вирусной природы; как отдельное лекарство и как адъювант для повышения иммуногенности вакцин. После применения интерферонов в ветеринарии можно использовать мясо и молоко без ограничений. Интерфероны — белковые препараты, и их синтез возможен только в живых организмах. Однако естественным путём получать интерфероны животных нерентабельно из-за мизерного количества производимого вещества и вероятности загрязнения препаратов патогенами животных. Выходом из сложившейся ситуации стали трансгенные организмы-продуценты. Но культуры тканей, микроорганизмы и грибы не могли до конца решить проблемы производства. Объём потребления белковых лекарственных препаратов продолжает расти. Растения-продуценты могут оказаться более экономически выгодными вследствие минимальной стоимости единицы биомассы, которая может быть еще уменьшена в результате отказа от выделения и очистки целевого вещества при использовании съедобных растений в качестве иммунопробиотических добавок.

В лаборатории геной и клеточной инженерии растений кафедры генетики и биотехнологии СПбГУ разработана технология производства бычьего интерферона гамма в растении табака (*Nicotiana tabacum* L.) [1]. Однако были обнаружены недостатки: низкий и нестабильный выход целевого белка, к тому же табак ядовит и не может быть использован как «съедобный иммуномодулятор». Для преодоления этих проблем было решено использовать в качестве продуцентов бычьего и куриного гамма интерферона морковь (*Daucus carota*) и люцерну (*Medicago truncatula* и *M. sativa*). Мы применили ряд подходов для повышения продуктивности трансгенных растений: модификацию гена интерферона гамма для повышения устойчивости белка к деградации, тканеспецифичный промотор (pSRD1) вместо распространенного p35S, модификацию консенсусной последовательности перед старт-кодом для адаптации к растительной системе экспрессии. У полученных трансгенных растений провели анализ сайта встраивания трансгена и количества вставок, что значительно влияет на уровень экспрессии гетерологичного гена.

- [1] Burlakovskiy, M.; Saveleva, N.; Rummyantsev, A. M.; Yemelyanov, V. V.; Padkina, M. V.; Lutova, L. The Structure of T-DNA Insertions in Transgenic Tobacco Plants Producing Bovine Interferon-Gamma // Appl. Sci. 2022, 12, 761 <https://doi.org/10.3390/app12020761>.

Исследования проведены при поддержке гранта Министерства образования РФ на создание научно-го центра мирового класса «Агротехнологии будущего» (соглашение № 075-15-2022-322 от 22.04.2022).



Биохакинг короткостебельности: гены *GRF* как инструмент увеличения урожайности сортов «Зелёной революции»

А.Г. Черноок¹, М.С. Баженов¹, А.С. Ермолаев¹, А.Ю. Крупина¹, Л.А. Беспалова², П.Ю. Крупин¹,
М.Г. Дивашук¹

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии

² ФГБНУ «НЦЗ имени П.П. Лукьяненко»

irbis-sibri@yandex.ru

Короткостебельность пшеницы как важная составляющая «Зелёной революции» закрепились в земледелии благодаря способности обеспечивать высокий урожай при больших дозах азотных удобрений без риска полегания посевов. Вместе с тем, у короткостебельных пшениц более низкая эффективность использования азота по сравнению с их высокорослыми аналогами [1–2]. В результате неэффективного использования растениями азотных удобрений возрастают издержки на производство зерна, а из-за смыва химикатов увеличивается вредная нагрузка на окружающую среду. Изучение и включение в селекционный процесс генов, вовлечённых в азотный обмен, может увеличить эффективность использования азота растениями, что в конечном итоге поспособствует как росту урожая, так и улучшению его качества. Примером таких генов является семейство транскрипционных факторов *GRF* (Growth-Regulating Factors), впервые описанных у риса [2]. Целью исследования было изучение влияния аллельного состояния генов *GRF3* на хозяйственно-ценные признаки у озимой мягкой пшеницы, яровой тритикале и ржи.

В результате проведённых исследований нами были секвенированы последовательности генов *TaGRF3-2A*, *TaGRF3-2B*, *TaGRF3-2D* мягкой пшеницы, генов *ScGRF3-2R* ржи и тритикале, на выявленные полиморфные участки изучаемых генов разработаны ПЦР-маркеры, с помощью которых проведён скрининг сортов и линий пшеницы (200 образцов), ржи (43 образца) и тритикале (170 образцов) из коллекции «НЦЗ имени П. П. Лукьяненко» и выращенных нами рекомбинантных инбредных линий пшеницы (1608 растений) и тритикале (9060 растений) на аллельное состояние перечисленных генов. На основе данных многолетнего полевого опыта (2 года в РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева (Москва), 3 года в «НЦЗ имени П. П. Лукьяненко» (Краснодар)) было определено влияние аллельного состояния изучаемых генов на элементы структуры урожайности и смену фенологических фаз.

Аллель *TaGRF3-2Ab*, обнаруженный у 39% образцов пшеницы, был ассоциирован с ранним колошением, высокой массой зерна и высокой натурой зерна. Растения пшеницы с аллельным вариантом 258 по микросателлитному локусу внутри гена *TaGRF3-2A*, наиболее распространённым (61%) в изучаемой коллекции, имели наибольшую массу 1000 зёрен. Аллель *TaGRF3-2B(188)* показал незначительное преобладание среди образцов пшеницы в исследуемой коллекции (51%), однако не оказал влияния на изучаемые фенотипические признаки растений. Аллельный вариант 238 гена *TaGRF3-2D* у пшеницы ассоциирован с более высокими значениями массы 1000 зёрен по сравнению с аллелем 250. Аллель *ScGRF3-2Ra*, ассоциированный с увеличением признаков продуктивности (масса 1000 зёрен, число зёрен с колоса), находился в преимуществе в коллекциях ржи (93%) и тритикале (38%). Полученные нами данные показывают перспективность изучения генов *GRF3* для улучшения продуктивности короткостебельных злаков, путём вовлечения в селекционный процесс определённых аллелей этих генов.

1. Gooding M. J., Addisu M., Uppal R. K., Snape J. W., Jones H. E. Effect of wheat dwarfing genes on nitrogen-use efficiency // The Journal of Agricultural Science. — 2012. — Vol. 150. P. 3–22.
2. Van der Knaap E., Kim J. H., Kende H. A novel gibberellin-induced gene from rice and its potential regulatory role in stem growth // Plant Physiology. — 2000. — Vol. 122, No. 3. P. 695–704.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации 574, № государственного задания 0431–2022–0001.



Генотипированная коллекция яровой мягкой пшеницы и маркер-ориентированная селекция в условиях Западной Сибири

В.П. Шаманин¹, С.С. Шепелев¹, А.С. Чурсин¹, И.В. Потоцкая¹, О.Г. Кузьмин¹, Е.И. Гордеева²,
В.Е. Пожерукова¹, С.А. Ессе¹, О.Г. Вернер¹, А.О. Яковлева¹, А.И. Моргунов¹

¹ ФГБОУ ВО Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина

² ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН

vp.shamanin@omgau.org

Многими исследованиями показано, что молекулярные маркеры ДНК стали важным инструментом для отбора генотипов с желаемыми признаками (Song et al., 2023; Morgounov et al., 2023). Однако практическая селекция пшеницы в России в основном ведется с использованием традиционных методов: занимает 10–12 лет от скрещивания до передачи нового сорта в ГСИ.

В Омском ГАУ создана генотипированная коллекция яровой мягкой пшеницы с использованием 64-х KASP-маркеров, ассоциированных с генами, контролирующими хозяйственно-ценные признаки и определены их эффекты. Коллекция включает более 400 сортов и линий, которые используются при подборе родительских пар для скрещиваний, с учетом целевых эффективных генов. В селекционных питомниках проводится маркер-контролируемый отбор линий с пирамидой эффективных генов (Шаманин и др. 2021; Шепелев и др., 2023). Созданы высокоурожайные сорта яровой мягкой пшеницы с пирамидой эффективных генов хозяйственно-ценных признаков, включенные в Государственный реестр селекционных достижений — Силантий (2022), Нива 55 (2022), Агрономическая 5 (2023), Эф 22 (2024) и переданы на госиспытание Столыпинская 105 (2022), Касибовская 2 (2022), Омский Аметист (2024). На создание сорта Эф 22 с фиолетовой окраской зерна, от скрещивания до передачи в ГСИ потребовалось всего лишь 6 лет. Для ускорения процесса создания данного сорта, при отборе использованы разработанные внутригенные ДНК-маркеры к регуляторным генам Pp, контролирующим биосинтез антоцианов в перикарпе (Gordeeva et al., 2023). Совместная работа генетиков и селекционеров — залог успешного решения задач маркер-ориентированной селекции яровой мягкой пшеницы, направленных на ускорение селекционного процесса и создания сортов с пирамидой эффективных генов хозяйственно-ценных признаков.

Исследования проведены при финансовой поддержке Российского научного фонда (соглашение № 22-16-20008 от 23.03.2022).



Поиск мишеней среди LRR-RLKIII для создания растений семейства *Solanaceae*, устойчивых к пектобактериозам

Е.В. Шруб¹, П.В. Вычик¹, А.В. Колубако¹, О.А. Бадалян¹, Е.А. Николайчик¹

¹ Белорусский государственный университет, Минск
shrubkaterina@gmail.com

Бактерии рода *Pectobacterium* вызывают заболевание «черная ножка» стеблей и мягкие гнили различных органов у растений семейства *Solanaceae*, которые могут наносить существенный ущерб урожаю важных сельскохозяйственных культур, в особенности картофеля.

В растениях врожденный активный иммунитет представлен двумя механизмами: МТИ (МАМР-индуцируемый иммунитет) и ЕТИ (эффектор-индуцируемый иммунитет). Особый интерес вызывают как *R*-гены (гены устойчивости), так и *S*-гены (гены восприимчивости), которые являются ключевыми участниками в ЕТИ.

Рецепторподобные киназы с лейцин-богатыми повторами (LRR-RLK) широко распространены в растительных геномах, например у представителей семейства Пасленовые более 600 генов, и выполняют самые разнообразные функции в сфере роста и развития растения. Большинство из них считаются ответственными за детекцию патогенов, однако функционально охарактеризованы единицы.

На сегодняшний день специфических иммунных рецепторов к представителям рода *Pectobacterium* у Пасленовых не описано. Однако у *Malus x domestica* охарактеризованы 4 LRR-RLK из третьего подсемейства LRRIII (DIPM1–4), чьи киназные домены специфически взаимодействуют с эффекторным белком DspE и участвуют в распознавании *Erwinia amylovora* [1]. Так как ортолог DspE является основным эффектором и у пектобактерий [2], логично было предположить, что у Пасленовых есть рецепторные киназы из подсемейства LRR-RLKIII, способные специфически связываться с этим эффектором.

Мы провели филогенетический анализ рецепторов подсемейства LRRIII из основных видов Пасленовых, *Arabidopsis thaliana* и ещё нескольких экспериментально охарактеризованных рецепторов других видов растений и определили кластеры, где с наибольшей вероятностью можно обнаружить подходящих генов-кандидатов для более детального исследования. Проведена проверка киназных доменов RLK в дрожжевой двухгибридной системе на способность связываться с DspE. Исследовалась также реакция растений с сайленсингом генов рецепторных киназ на заражение пектобактериями.

В результате было охарактеризовано несколько рецепторподобных киназ, которые в дрожжевой двухгибридной системе демонстрировали способность связываться с DspE. Некоторые из них демонстрировали свойства *S*-генов, а один стал потенциальным кандидатом на роль *R*-гена. Таким образом, представители LRR-RLKIII могут являться специфическими иммунными рецепторами и стать удобными мишенями для геномного редактирования с целью создания сортов растений сем. *Solanaceae*, устойчивых к *Pectobacterium* spp.

[1] Apple Proteins that Interact with DspA/E, a Pathogenicity Effector of *Erwinia amylovora*, the Fire Blight Pathogen / X. Meng [et al.] // MPMI. — 2006. — Vol. 19, № 1. — P. 53–61.

[2] Николайчик Е. А., Овчинникова Т. В., Валентович Л. Н., Губич О. И., Шолух М. В., Евтушенко А. Н. Транслокация белка DspE фитопатогенными бактериями *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* в клетки *Nicotiana tabacum* и его необходимость для индукции реакции гиперчувствительности // Доклады НАН Беларуси. — 2005. — Т. 49, № 5. — С. 81–85.



Геномное редактирование и РНК-интерференция – эффективные инструменты для улучшения питательной ценности зернового сорго

Л.А. Эльконин¹, Г.А. Геращенко², Н.В. Борисенко¹, С.Х. Сарсенова¹, В.М. Панин¹

¹ Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока, г. Саратов

² Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН, г. Уфа

lelkonin@gmail.com

Развитие технологий генетической инженерии и редактирования генома открывает широкие возможности для решения многих задач генетики и селекции растений, в частности, изменения состава запасных белков и улучшения питательной ценности зерна. Особую актуальность эта задача имеет для сорго — засухоустойчивой зерновой и зернофуражной злаковой культуры, отличающейся, однако, от других видов злаков сравнительно низкой питательной ценностью зерна, в основе которой лежит устойчивость запасных белков (кафиринов) к перевариванию протеазами. Использование технологий РНК-интерференции и геномного редактирования открывает пути к изменению качественного и количественного состава кафиринов. У двух сортов зернового сорго — Желтозерного 10 и Аванс — нами получены линии (T₅), несущие генетическую конструкцию, способную к индукции РНК-сайленсинга гена γ-кафирина. Эти линии характеризуются повышенной перевариваемостью белков зерна *in vitro* (до 85–90%), более высоким содержанием лизина и модифицированным типом эндосперма, с полностью или частично отсутствующим стекловидным слоем. Кроме того, у сорта Аванс путем введения генетических конструкций для сайт-направленного мутагенеза генов *k1C5* and *gKAF1*, кодирующих α- и γ-кафирины, соответственно, нами получены мутанты с улучшенной перевариваемостью белков зерна. Используемые в этих экспериментах вектора содержали ген эндонуклеазы *cas9* и гид-РНК, мишенью которой являлись последовательности, кодирующие сигнальные полипептиды α- или γ-кафиринов. Секвенирование генов *k1C5* and *gKAF1* у семи растений T₀ выявило три мутанта с мутациями в гене *k1C5* и два мутанта с мутациями в гене *gKAF1*. Потомство этих мутантов имело улучшенную перевариваемость белков зерна (86–92%) по сравнению с исходным сортом (63–67%). В поколении T₁ у некоторых мутантов отсутствовали гены *cas9* и *bar*, что указывает на элиминацию у них генетической конструкции, индуцировавшей мутации. Таким образом, использование технологий CRISPR/Cas и РНК-интерференции открывает возможности для кардинального улучшения питательной ценности зерна сорго — исключительно важной культуры в условиях глобального потепления климата.



Коллекция линий кукурузы с наследуемым и ненаследуемым типами партеногенеза

О.И. Юдакова¹, Н.В. Апанасова¹, О.В. Гуторова¹, О.Л. Госенова¹, Ю.В. Смолькина¹

¹ Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Саратов
yudakovaio66@gmail.com

В Саратовском государственном университете имени Н. Г. Чернышевского создана коллекция уникальных линий кукурузы (*Zea mays* L.) с наследуемым и ненаследуемым типами партеногенеза. К первому типу относятся линии, у которых яйцеклетки способны развиваться без оплодотворения, в результате чего у растений формируется в среднем 10–15% семян с гаплоидным зародышем материнского типа. Количество матроклиных гаплоидов в потомстве возрастает при задержке опыления до 7 суток. Родоначальником линий с наследственной предрасположенностью к партеногенезу стала линия АТ-1 (Апомиктичная Тырнов 1), выведенная В. С. Тырновым (1983). От нее была получена гомозиготная линия АТ-3 с частотой партеногенеза до 27% и автономного эндоспермогенеза до 4%. Для обеих линий созданы аналоги с разными типами ЦМС (М, Т, С, В). От диплоидизированного матроклиного гаплоида линии АТ-3 выведена линия АПО-3. От скрещивании линии АТ-1 с Тестером Мангельсдорфа (ТМ) была получена серия из 24 линий, которые характеризуются разным сочетанием рецессивных маркерных генов, унаследованных от ТМ, и высокой частотой гаплоидии (до 12%) и полиэмбрионии (до 4%), унаследованных от АТ-1. Установлено, что склонность к партеногенезу у всех вышеперечисленных линий является ядерным доминантным признаком и может передаваться как через женские, так и мужские гаметы. Генетический анализ данных линий позволил идентифицировать восьмую хромосому как наиболее вероятного кандидата для локализации гена или генов, обеспечивающих партеногенетическое развитие яйцеклеток. Выявлены RAPD-праймеры, пригодные для оценки ДНК-полиморфизма и позволившие сгруппировать линии по степени генетического родства, что открывает перспективы для их генетической паспортизации.

К линиям с ненаследуемым типом партеногенеза относятся высокоэффективные линии — гаплоиндукторы, пыльца которых стимулирует развитие матроклиных гаплоидных зародышей на материнских растениях других линий и форм. На основе линии ЗМС-8 (Зародышевый маркер Саратовский-8) (Тырнов, Завалишина, 1983) и нелинейной формы кукурузы с пурпурной окраской стеблей, листьев и метелок (доминантные признаки) создана серия линий ЗМС-П, адаптированных к условиям Нижнего Поволжья. Линии маркированы генами, отвечающими за окраску зародыша и эндосперма (ACR-nj; *cludu Pr b pl y P^{wf}*), и генами, обуславливающими пурпурную окраску вегетативных органов. Наличие универсальной системы маркирования позволяет с высокой точностью отбирать гаплоиды среди гибридов на любой стадии развития от зерновки до взрослого растения. При опылении материнских растений пылью растений линий ЗМС-П гаплоиды возникают с частотой до 10%.

Линии с наследуемым и ненаследуемым типами партеногенеза представляют теоретический интерес как объекты для идентификации генов, обуславливающих развитие яйцеклеток без оплодотворения. Практическое использование их в селекции позволяет решать целый ряд важных задач, в том числе: проведение отбора в первом поколении; получение гомозиготных линий за один год путем удвоения числа хромосом у гаплоидов; создание стерильных аналогов и др.

Симпозиум 11: Мутации, рекомбинация, репарация
Symposium 11: Mutations, DNA Repair and Recombination



Конформационно-специфические взаимодействия в основе регуляции рекомбинационных комплексов RecA белком RecX

А.А. Алексеев¹, Н.Е. Морозова¹, В.А. Винник¹, Г.Е. Побегалов², М.А. Ходорковский¹

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

² University College London, London

alex35093@gmail.com

Бактериальный белок RecA участвует в важнейших процессах жизнедеятельности клетки — рекомбинационной репарации ДНК, регуляции транскрипции генов SOS-ответа, горизонтальном переносе генов, и других процессах. Гомологи RecA были обнаружены во всех живых организмах — бактериях, археях, эукариотах, и некоторых вирусах. Нарушение работы рекомбиназ приводит к серьезным последствиям: в частности, нарушение регуляции человеческой рекомбиназы Rad51 является причиной возникновения ряда онкологических заболеваний. Для осуществления своих функций RecA и его гомологи формируют спиралевидные филаменты на одноцепочечной ДНК (оцДНК) — рекомбинационные комплексы, осуществляющие поиск гомологии и синапс гомологичных участков.

Одним из важных регуляторов активности рекомбинационных комплексов RecA является белок RecX, который ингибирует катализируемую филаментом RecA реакцию обмена нитей, АТФазную активность RecA и индукцию SOS-ответа. На основе RecX разрабатываются пептиды, направленные на предотвращение развития антибиотикорезистентности у бактерий. RecX — высокоэффективный ингибитор RecA, для объяснения механизма действия которого предложено несколько моделей, не сходящихся к единому консенсусу.

В данной работе изучены механизмы взаимодействия RecX с ДНК-белковыми филаментами RecA с учетом различных конформационных состояний филамента, реализующихся в ходе гидролиза АТФ. Впервые в мире было обнаружено и охарактеризовано ранее неизвестное свойство белка RecX, заключающееся в стабилизации им неактивных конформаций филамента RecA. Обнаруженное специфическое взаимодействие RecX с неактивными АДФ- и аро- конформациями филамента RecA уменьшает константы скоростей перехода из АДФ- и аро- состояний филамента в активное АТФ состояние. Связывание RecX с динамически возникающими в результате гидролиза АТФ АДФ- и аро- состояниями филамента RecA приводит к увеличению их времени жизни и, как следствие, к обратимому увеличению их доли в структуре филамента RecA-оцДНК, находящегося в среде с АТФ. На основе полученных данных был предложен новый механизм регуляции филамента RecA-оцДНК белком RecX, осуществляющейся через конформационно-специфические взаимодействия.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 22-74-00072.



Влияние инактивации генов, ответственных за динамику хроматина на индуцированный мутагенез у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

Е.А. Алексеева¹, Т.А. Евстюхина¹, И.И. Скобелева¹, В.Т. Пешехонов¹, И.В. Бахланова¹, В.Г. Королев¹

¹НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ

alekseeva_ea@pnpi.nrcki.ru

Хроматин по своей природе является динамичной структурой. Его динамика (модификации, сборка и разборка нуклеосом, их перемещение) осуществляется различными белками и белковыми комплексами, такими, как гистонацетилазы, гистондеацетилазы, различные сборочные и ремодулирующие комплексы.

В нашей работе мы изучили влияние инактивации некоторых субъединиц гистоацетилазного комплекса NuB4, выполняющего одновременно функцию гистонового шаперона (основные субъединицы Hat1p, Hat2p, Hif1p и Hsm3p.) [1], гистондеацетилазного комплекса RPD3 (основные субъединицы Rpd3, Sin3 и Ume1) [2], а также ремодулирующего комплекса INO80 (состоит из 15 различных субъединиц: Ino80, Rvb1, Rvb2, Arp4, Arp5, Arp8, Act1, Taf14, Nhp10, Ies1, Ies2, Ies3, Ies4, Ies5 и Ies6) [3] на УФ-индуцированный мутагенез и экспрессию гена *RNR3*, кодирующего субъединицу рибонуклеотидредуктазного комплекса RNR.

Полученные нами данные показали, что инактивация субъединиц данных комплексов приводит как к увеличению частоты УФ-индуцированного мутагенеза (у мутантных штаммов *rpd3Δ*, *nhp10Δ*, *hif1Δ* и *hsm3Δ*), так и к ее снижению (*sin3Δ*) (или равной — штамма дикого типа (*ies5Δ*, *hat1Δ*)) по сравнению со штаммом дикого типа. Также нами показано, что инактивация различных субъединиц этих комплексов оказывает влияние на экспрессию гена *RNR3*. Совмещающая различные мутации генов, кодирующих субъединицы комплекса INO80, с инактивацией субъединиц комплексов NuB4 и RPD3, были получены двойные мутанты. Штаммы с мутацией *ies5Δ* и мутациями в генах, кодирующих субъединицы комплексов NuB4 и RPD3, показали снижение уровней специфического УФ-индуцированного мутагенеза ниже уровня штамма дикого типа, в то время как такие же комбинации с мутацией *nhp10Δ*, показали уровень повышенного УФ-индуцированного мутагенеза, не отличимый от уровня штамма дикого типа.

Таким образом, мы обнаружили, что мутации в генах, контролирующих субъединицы комплекса INO80, проявляют сильные взаимодействия с мутациями в генах кодирующих субъединицы комплексов NuB4 и RPD3. Эти результаты означают, что гены, кодирующие субъединицы комплексов INO80, NuB4 и RPD3, контролируют один путь специфического УФ-индуцированного мутагенеза.

- [1] *Evstyukhina T. A., et al*, Genetic analysis of the Hsm3 protein function in yeast *Saccharomyces cerevisiae* NuB4 complex // *Genes* 12 (2021) 1083, doi:10.3390/genes12071083.
- [2] *Chen X-F., et al*, The Rpd3 core complex is a chromatin stabilization module // *Curr. Biol.* 22(1) (2012) 56–63, doi:10.1016/j.cub.2011.11.042.
- [3] *Tosi A., et al*. Structure and subunit topology of the INO80 chromatin remodeler and its nucleosome complex // *Cell*. 2013. V. 154. P. 1207–1219. doi: 10.1016/j.cell.2013.08.016.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 1023031500033–1–1.6.7;1.6.4;1.6.8 Функциональная и структурная организация сложных, мультикомпонентных биологических систем и их динамика).



Взаимосвязь механизмов изменения генома и протеома у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

Ю.В. Андрейчук^{1 2}, Е.И. Степченкова^{1 2}, С.П. Задорский^{1 2}, А.С. Жук^{3 2}, Е.Р. Тараховская^{1 2},
С.Г. Инге-Вечтомов^{1 2}

¹ Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН

² Санкт-Петербургский государственный университет

³ Университет ИТМО

yullinnabk@yandex.ru

Амилоиды — высокомолекулярные белковые агрегаты, которые обладают упорядоченной фибриллярной кросс- β структурой. С переходом некоторых белков из растворимой в амилоидную форму связано развитие ряда заболеваний у млекопитающих. Было обнаружено, что присутствие некоторых патологических амилоидов ассоциировано с дестабилизацией генома, однако механизмы взаимодействия между амилоидогенезом и мутагенезом не были исследованы.

Целью данной работы является выявление причинно-следственной связи между процессами, контролирующими амилоидогенез и стабильность генома, на модели приона [PSI^+] дрожжей *S. cerevisiae*, представляющего собой амилоидную форму фактора терминации трансляции Sup35.

Мы создали коллекцию из 56 штаммов дрожжей, несущих различные варианты [PSI^+], и определили частоту и тип генетических изменений, возникающих на фоне [PSI^+]. Мы показали, что у дрожжевых штаммов с прионом [PSI^+] часто обнаруживаются генетические изменения различных типов: точковые мутации, дупликации отдельных хромосом и дупликации целого генома. При этом наличие [PSI^+] само по себе не влияет на частоту мутагенеза, а воздействие на клетки мутагенными факторами не приводит к повышению частоты возникновения [PSI^+]. При проверке гипотезы о том, что прион и изменения в геноме дрожжей возникают независимо друг от друга, но под действием общего индуцирующего фактора, мы показали, что частота одновременного возникновения мутаций в гене *CAN1* и приона [PSI^+] в 2,5 раза превышает значение частоты, ожидаемое в случае независимости этих событий. Кроме того, мы показали, что частота встречаемости клонов с измененными параметрами мутагенеза у штаммов [PSI^+] более чем в 50 раз превышает частоту клонов с нарушениями мутагенеза у штаммов [psi^-].

На основе полученных данных мы сделали вывод, что в дрожжевой клетке действует неизвестный фактор, который оказывает влияние одновременно на ее геном и протеом, приводя к возникновению повреждений ДНК и белков, которые затем могут зафиксироваться в виде наследуемых мутаций или прионных агрегатов.

Работа поддержана грантом РНФ 20-14-00148-П и Санкт-Петербургским государственным университетом (проект ID 95444727).



Изменение стабильности генома костного мозга и клеток ЦНС самцов мышей СВА в ответ на иммобилизацию и феромональный стрессор

Б.В. Бакулевский¹, К.Р. Давыдова¹, В.Д. Щербинина^{1,2}, Е.В. Даев^{1,2}

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

² Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург

bakulewsky@yandex.ru

Отделы ЦНС, воспринимающие пришедший сигнал, играют важную роль в развитии стресс-реакции как её генераторы и, одновременно, мишени. Изменение стабильности генома в клетках-мишенях является неспецифическим признаком организменного стресса в результате активации оси гипоталамус-гипофиз-надпочечники [1].

Цель работы заключалась в изучении влияния отдельного и совместного действия двух стрессоров психосоциальной природы (стресс-феромона и иммобилизации) на стабильность ДНК в интерфазных ядрах клеток костного мозга, ольфакторных лукович и гиппокампа, а также дальнейшей реализации возникших повреждений в перешедших к делению клетках костного мозга у самцов мышей линии СВА.

Животных в возрасте 3–4 месяцев подвергли двукратному двухчасовому стрессированию путем предоставления 2,5-диметилпиразина, помещения в специальные иммобилизационные камеры или за счет одновременного воздействия обоих стрессоров. Временной промежуток между стрессированиями составлял 22 часа, что позволило учесть как степень фрагментации ДНК, с помощью щелочного кометного электрофореза, так и частоту митотических нарушений ана-телофазным методом.

Показано, что после проведения всех вариантов воздействий частота выявляемых нарушений целостности генома клеток исследуемых структур организма повышалась в 1,5–1,7 раза как во время интерфазы, так и в поздней анафазе в клетках костного мозга. Различий между эффектами воздействия иммобилизации и 2,5-диметилпиразина обнаружено не было. При анализе «ДНК-комет» в клетках мышей, подвергнутых совместному воздействию стрессоров, было обнаружено достоверное повышение уровня дестабилизации генетического материала по сравнению с эффектами, наблюдаемыми при действии отдельных стрессоров. Однако, при подсчете хромосомных aberrаций, такого эффекта выявлено не было, что может быть объяснено действием репарационных механизмов, блоком вступления в митоз или апоптозом клеток с сильно поврежденной ДНК. Подобный данные о совместном действии стресс-феромона и иммобилизации получены впервые.

[1] Дюжикова Н. А., Даев Е. В. Геном и стресс-реакция у животных и человека // Экологическая генетика. 2018. Т. 16, № 1. С. 4–26. DOI: 10.17816/ecogen1614–26.



Особенности мейотической рекомбинации у четырех видов вьюрков

Е.О. Гришко¹, А.А. Котельников¹, Л.П. Малиновская¹, А. Слободчикова¹

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН

e.grishko@g.nsu.ru

Мейотическая рекомбинация имеет ряд характерных свойств, универсальных для всех организмов.

- 1) Наличие облигатной хиазмы: для успешного расхождения хромосом в мейозе необходимо образование как минимум одного рекомбинационного узелка на каждом биваленте.
- 2) Интерференция: местоположение первого образовавшегося на биваленте узелка влияет на места возникновения последующих узелков.
- 3) Центромерный эффект: в центромерном и перицентромерных районах рекомбинация заблокирована.

Мы выяснили особенности всех вышеперечисленных свойств рекомбинации для четырех видов вьюрков (Fringillidae, Aves): обыкновенной коноплянки (*Linaria cannabina*), обыкновенного снегиря (*Pyrrula pyrrula*), обыкновенного щегла (*Carduelis carduelis*) и чижа (*Spinus spinus*). Исследование проводилось на препаратах пахитенных сперматоцитов, окрашенных антителами к комплексу центромерных белков, MLH1 — маркеру рекомбинационных узелков и SYCP3 — белку латерального элемента синаптонемного комплекса.

Наличие облигатной хиазмы. У всех четырех видов среднее количество рекомбинационных узелков на клетку превышало количество бивалентов. Эти высокие значения скоростей рекомбинации характерны и для многих других видов птиц.

Интерференция. Интерференцию мы оценивали как корреляцию между положениями соседних узелков. Внутри плеч корреляция была значимой, а между плечами — отсутствовала. Поэтому мы исследовали каждое плечо отдельно. В случае, если на плече был один узелок, он располагался в теломерной области, а последующие узелки «выталкивались» соседними в сторону центромеры.

Центромерный эффект. У данных видов центромерный эффект как таковой отсутствовал, а из-за особенностей интерференции ближайшее положение рекомбинационного узелка к центромере определялось количеством рекомбинационных узелков на плече.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда, грант № 23-24-00304.



Роль конформационной подстройки фермент-субстратного комплекса в механизме контроля субстратной специфичности ДНК-диоксигеназы человека АВН2

А.Т. Давлетгильдеева¹, Т.Е. Тюгашев¹, М. Джао², Н.А. Кузнецов¹, А.А. Кузнецова¹

¹ *Институт Химической Биологии и Фундаментальной Медицины СО РАН, Новосибирск, Россия*

² *Новосибирский Государственный Университет, Новосибирск, Россия*

davleta94@gmail.com

Одним из основных типов повреждений клеточной ДНК являются алкилирующие повреждения, которые могут быть вызваны как воздействием внешних химических агентов, так и побочным действием внутренних метаболических процессов. Алкилирующие повреждения цитотоксичны и потенциально мутагенны, поэтому их репарация является необходимой для выживания и нормального функционирования живых организмов. За прямую репарацию алкилирующих повреждений путем окисления алкильной группы отвечают, главным образом, ферменты суперсемейства Fe(II)/ α -кетоглутарат-зависимых AlkB-подобных ДНК-диоксигеназ. У человека среди девяти AlkB-подобных ферментов, известных на сегодняшний день, ДНК-диоксигеназа АВН2 представляет особый интерес из-за своей широкой субстратной специфичности.

В рамках данного исследования было проведено картирование активного центра ДНК-диоксигеназы человека АВН2 с целью определения функциональной роли отдельных аминокислотных остатков в процессе окислительного деметилирования ДНК. Для этого на основании данных рентгеноструктурного анализа проведен отбор ряда аминокислотных остатков в области активного центра и с помощью моделирования фермент-субстратных комплексов выявлена роль данных остатков как в формировании водородных связей с метилированными основаниями, обеспечивающими специфическое узнавание повреждений в активном центре, так и способность некоторых остатков стерически препятствовать процессу выворачивания поврежденного нуклеотида в активный центр фермента. Для верификации молекулярно-динамических данных методом сайт-направленного мутагенеза были получены мутантные формы АВН2, содержащие точечные замены остатков V99, R110, Y122, F124, S125, I168, R172, D173 или E175 на Ala. Для всех мутантных форм АВН2 определено влияние внешних замен на стабильность белковой глобулы и их каталитическую активность. Сравнительный анализ свойств позволил установить роль исследуемых аминокислотных остатков как в связывании модельных ДНК-субстратов, так и их участие в каталитическом процессе. Полученные результаты вносят вклад в понимание механизма действия ДНК-диоксигеназы АВН2 в процессе деметилирования и проливают свет на аспекты тонкой конформационной подстройки фермент-субстратного комплекса в процессе формирования каталитически активного состояния.



Неканонические функции ДНК-гликозилаз

Д. О. Жарков¹

¹ Новосибирский государственный университет

oxoguanine@gmail.com

Экцизионная репарация оснований (base excision repair, BER) представляет собой наиболее часто используемый в природе способ исправления повреждений в ДНК. В этом пути удаление поврежденных оснований инициируется ферментами, относящимися к классу ДНК-гликозилаз, которые катализируют гидролиз *N*-гликозидных связей между поврежденными основаниями разных типов и сахарофосфатным остовом. В каждом виде живых организмов есть несколько таких ферментов с разной субстратной специфичностью; так, геном человека кодирует 11 ДНК-гликозилаз, *E. coli* — 8, *S. cerevisiae* — 5, дрозофилы — 4 ДНК-гликозилазы. По механизму действия ДНК-гликозилазы делятся на два класса — монофункциональные, которые только удаляют основание, оставляя в ДНК апурин-апириимидиновый (АП-) сайт, и бифункциональные, которые дополнительно обладают лиазной активностью, расщепляющей ДНК с 3'-стороны от АП-сайта.

До недавних пор ДНК-гликозилазы рассматривались исключительно как ферменты, необходимые для поддержания стабильности генома. Однако в последнее время обнаруживается все больше случаев, когда ДНК-гликозилазы выполняют функции, отличные от канонических. Так, урацил-ДНК-гликозилаза (UNG) человека необходима в процессах гипермутационеза и переключения классов при диверсификации созревании генов иммуноглобулинов. Т:G-специфичная тимин-ДНК-гликозилаза (TDG) играет ключевую роль в активном эпигенетическом деметилировании; в нем, возможно, принимает участие и ряд других ДНК-гликозилаз (MBD4, NEIL1, NEIL2). ДНК-гликозилазы, отвечающие за репарацию окислительных повреждений (OGG1, NEIL1, NEIL2, NEIL3), инициируют специальный путь регуляции транскрипции, который во многих случаях контролирует экспрессию генов, связанных с воспалительным ответом. В клетках человека АП-лиазная активность некоторых бифункциональных ДНК-гликозилаз (NEIL1, NTHL2) способна поддерживать репарацию при дефиците АП-эндонуклеазы — фермента, катализирующего следующую стадию BER после гликозилазной. В ряде групп прокариот специализированные ДНК-гликозилазы выполняют функцию защиты от чужеродных генетических элементов. Наконец, ввиду своей способности связывать неспецифическую ДНК и передвигаться по ее контуру за счет одномерной диффузии, у некоторых вирусов ДНК-гликозилазы стали играть роль факторов процессивности репликативного комплекса.



Репаративная сборка хроматина и ее роль в регуляции мутационного процесса у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

В.Г. Королев¹, Е.А. Алексеева¹, Т.А. Евстюхина¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

korolev_vg@pnpi.nrcki.ru

Репаративная сборка хроматина является важным шагом в поддержании стабильности генома. Правильную сборку хроматина обеспечивают шапероны гистонов, нарушение функции которых может привести к развитию различных форм рака и к ряду наследственных заболеваний у человека. В нормальных условиях гистоны ассоциируются со специфическими шаперонами, которые помогают им в процессе сборки/разборки нуклеосом. В течение клеточного цикла наиболее массовые процессы сборки/разборки нуклеосом происходят при репликации и репарации ДНК. Репликативная и репарационная сборка хроматина различаются набором шаперонов, участвующих в этих процессах. Процесс сборки репарационного хроматина имеет ряд отличий от процесса сборки при репликации и менее полно изучен, чем последний. Ключевым индикатором, который показывает, что сборка/разборка хроматина важны для репарационного процесса, является чувствительность клеток дрожжей, мутантных по гистоновым шаперонам к ДНК-повреждающим факторам. В нашей работе мы изучили влияние инактивации субъединиц гистоновых шаперонов (NuB4, Asf1 Him1), субъединиц гистондеацетилазного комплекса RPD3 (Rpd3, Sin1) и хроматин ремодулирующего комплекса INO80 (Nph10/Ies5, Ies6) на мутационный процесс в дрожжах *Saccharomyces cerevisiae*. Мы обнаружили, что мутации в генах, контролирующих субъединицы комплекса INO80, проявляют сильное взаимодействие с мутациями в генах кодирующих субъединицы комплексов NuB4 и RPD3. Мутанты, потерявшие различные субъединицы этих комплексов, показали специфический повышенный УФ-индуцированный мутагенез, который зависел от репаративной полимеразы Polη и активности киназы Rad53. Показано, что причиной этого мутагенеза является некорректно собранный хроматин, который блокирует суперактивацию киназы, возникающую при повреждении ДНК и последующей индукции чекпойнта. Кроме того, в ходе этих исследований мы доказали гипотезу о том, что белок Him1 выполняет шаперонную функцию в процессе репарационной сборки хроматина.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 1023031500033–1–1.6.7;1.6.4;1.6.8 Функциональная и структурная организация сложных, мультикомпонентных биологических систем и их динамика).



Оценка влияния гомологичной рекомбинации на мутагенную активность цитозиндезаминаз семейства AID/APOBEC

Е.В. Кравцова^{1 2}, А.В. Царегородцева², Е.И. Степченкова^{2 3}

¹ Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

³ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН

elizavetakravtsova830@mail.ru

Цитозиндезаминазы семейства AID/APOBEC выполняют в организме человека ряд важных функций: AID обеспечивает повышение аффинности антител, APOBEC3 ингибируют ретровирусы, APOBEC1 участвует в метаболизме липидов. В ходе реализации физиологических функций ферменты AID/APOBEC дезаминируют цитозин до урацила в составе одноцепочечных ДНК и РНК. Нарушение регуляции ферментов AID/APOBEC приводит к неспецифическому дезаминированию геномной ДНК и накоплению мутаций в онкогенах, что часто приводит к развитию раковых заболеваний [1]. Мутагенная активность цитозиндезаминаз во многом зависит от различных систем репарации ДНК, участвующих в поддержании стабильности генома. Так, при анализе генома раковых и нормальных клеток больного множественной миеломой мы получили данные, указывающие, что нарушения рекомбинационной репарации на фоне повышенной активности AID/APOBEC могли стать одной из основных причин возникновения болезни [2]. Влияние нарушений рекомбинационной репарации на мутагенез, зависимый от цитозиндезаминаз, было также показано при экспрессии генов цитозиндезаминаз позвоночных в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*.

Целью нашей работы является оценка степени влияния системы гомологичной рекомбинации на мутагенную активность цитозиндезаминаз.

Мы получили штамм дрожжей *S. cerevisiae* с делецией гена *RAD52*, кодирующего ключевой фактор рекомбинационной репарации ДНК. Полученный штамм трансформировали плазмидами, несущими ген цитозиндезаминазы человека *APOBEC3A* (*wt* или аллель R128C), а также ген цитозиндезаминазы морской миноги *PmCDA1*. У полученных трансформантов оценивали частоту появления прямых мутаций устойчивости к L-канаванину. Мы показали, что на фоне делеции гена *RAD52* частота мутагенеза увеличивается синергически. Аналогичные результаты были получены в другой тест-системе, имеющей название альфа-тест, которая позволяет определять частоту генных мутаций и хромосомных нарушений. Таким образом, мутагенная активность цитозиндезаминаз зависит от системы рекомбинационной репарации. Полученные результаты обозначают направление для поиска таргетных препаратов и поиска индивидуальных методов лечения онкологических заболеваний у пациентов с повышенным уровнем экспрессии генов цитозиндезаминаз.

[1] Alexandrov L. B. et al. // Nature. 2020. V. 578. No. 7793. P. 94–101.

[2] Жук А. С. и др. // Клиническая онкогематология. 2023. Т. 16. № 3. С. 337–349.

При поддержке гранта РФФ 20-15-00081.



Особенности взаимодействия белков систем эксцизионной репарации ДНК с G-богатым фрагментом промоторной области гена обратной транскриптазы теломеразы

Е.А. Кубарева¹, В.Ю. Савицкая², В.Г. Сныга², Е.А. Дятлова³, М.В. Монахова¹, Н.Г. Долинная²,
Д.О. Жарков³, М.Э. Зверева²

¹ НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

² Химический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

³ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

kubareva@belozersky.msu.ru

Теломераза — фермент, основной функцией которого является добавление повторяющихся последовательностей нуклеотидов на концы хромосом. Активация теломеразы в соматических клетках является критическим событием для их перерождения в опухолевые клетки и наблюдается в 85% случаев онкологических заболеваний. Активность теломеразы определяется ее каталитической субъединицей — обратной транскриптазой (TERT).

«Драйверные» мутации G > A промотора гена *TERT* в позициях 124, 146 и 138/139 в матричной цепи относительно стартового кодона могут повышать эффективность синтеза белка *TERT* за счет образования новых консенсусных участков связывания факторов транскрипции семейства ETS. Промоторная область гена *TERT* обладает G-богатым нуклеотидным составом и способна в определенных условиях образовывать 3 тандемных G-квадруплекса (G4).

С помощью экспериментальных методов нами убедительно доказано влияние структурных особенностей G4 на эффективность удаления повреждений, локализованных внутри или в непосредственной близости от квадруплекса, под действием ключевых белков систем эксцизионной репарации: «мисматчей» (MMR) и оснований (BER).

- 1) Белки MutS и MutL (система MMR *E. coli*) эффективно связываются с G-квадруплексными структурами промотора гена *TERT* даже несмотря на точечные нуклеотидные замены. G4 ингибирует эндонуклеазную функцию белка MutL из *Neisseria gonorrhoeae* — компонента метил-независимой репарации «мисматчей».
- 2) Действие белков BER — урацил-ДНК-гликозилазы (UNG), 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы (OGG1), AP-эндонуклеазы 1 (APE1) человека, а также ДНК-гликозилаз NEIL1 и NEIL2 мыши зависит от локализации возникшего повреждения, а также его влияния на стабильность G4-структуры *TERT*-промотора. Закрепление тканеспецифичных мутаций в промоторе гена *TERT* может быть результатом снижения эффективности функционирования: а) OGG1 и APE1 в случае повреждения в положениях 124 и 146 G-богатой цепи в условиях образования G4; б) UNG и APE1 в случае повреждения в положении 146 C-богатой цепи; в) NEIL1, но не NEIL2, в случае окислительного повреждения в C-богатой цепи.

Таким образом, нами подтверждена возможность закрепления «драйверных» мутаций вследствие снижения эффективности функционирования систем репараций ДНК в промоторной области *TERT*, образующей G-квадруплексные структуры.

Работа поддержана Российским научным фондом (проект № 21-14-00161).



Место и роль клеточно-популяционных механизмов поддержания генетической стабильности в системе генетического гомеостаза

С. М. Кузин¹

¹ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва
smkuzin@mail.ru

Клеточный геном находится под постоянным воздействием множества экзогенных и эндогенных факторов, вызывающих его изменения. Генетическая стабильность поддерживается благодаря многообразным механизмам генетического гомеостаза, действующим на разных уровнях организации. Эти механизмы можно представить в виде иерархической системы, имеющей четыре основных уровня:

1. Антимутационные механизмы защиты генома клеток от повреждений. К ним относятся ферментные системы детоксикации, антиоксиданты; механизмы подавления активности транспозонов и чужеродных нуклеиновых кислот; тканевые и мембранные барьеры, препятствующие проникновению мутагенов в клетки и их ядра. Если эти механизмы не срабатывают, образуются первичные повреждения ДНК.
2. Репарация первичных повреждений ДНК. Происходит постоянно во всех клетках при действии разнообразных ферментных систем.
3. Клеточно-популяционные механизмы элиминации клеток с нерепарированными генетическими нарушениями. К ним, как и на предыдущих уровнях, относятся разнообразные механизмы, общим для которых является принцип отбора — из клеточной популяции удаляются клетки с большими нарушениями генома.
4. Естественный отбор, действующий как на эмбриональном, так и на постэмбриональном этапах онтогенеза.

Механизмы всех уровней составляют сбалансированную систему, разные звенья которой взаимосвязаны и имеют большее или меньшее значение в зависимости от вида и интенсивности мутагенного воздействия, типа мутаций, ткани, в которой они произошли, и ряда других условий. При действии мутагенов последовательно включаются от первого до третьего уровня защиты генома организма. Четвертый уровень позволяет сохранять генетическую стабильность в поколениях организмов на популяционно-видовом уровне. Эффективность системы генетического гомеостаза чрезвычайно высока. У человека в течение суток в каждой соматической клетке возникает несколько десятков тысяч первичных повреждений ДНК, а за 70 лет жизни сохраняется и накапливается в виде однонуклеотидных мутаций (SNP) всего от 2 до 10 тысяч на клетку. В половых клетках эффективность на порядок выше — в зиготу в зависимости от возраста родителей передается от 50 до 150 новых SNP.

Клеточно-популяционный уровень является ключевым в системе генетического гомеостаза. Именно от сохранения мутантных клеток, их возможности размножаться, а для половых клеток — возможности участвовать в оплодотворении, зависит проявление мутаций, в том числе в виде онкологических или наследственных заболеваний. Между тем, действующие на этом уровне механизмы, за исключением контрольных точек клеточного цикла, остаются наименее изученными.

В работе представлены известные в настоящее время механизмы элиминации половых и соматических мутантных клеток, оценена их реальная роль и эффективность для поддержания генетической стабильности в норме и при мутагенном воздействии. Приведена обоснованная по результатам собственных исследований концепция пространственно-временного механизма элиминации клеток с генетическими нарушениями посредством перевода их в терминальную дифференцировку.

1. Кузин С. М. Пространственная ниша и временное окно — необходимые условия поддержания генетической стабильности стволовых клеток // Гены и клетки. Т. 17. № 3. С. 127.



Влияние природных полиморфных вариантов ферментов эксцизионной репарации оснований ДНК на эффективность удаления повреждений

Н.А. Кузнецов¹

¹ *Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук*
Nikita.Kuznetsov@niboch.nsc.ru

Стабильность генетической информации в живой клетке — ключ к ее нормальному функционированию. На сегодняшний день не остается сомнений, что повреждения ДНК играют ключевую роль в возникновении различных заболеваний, в том числе онкологических. Процесс эксцизионной репарации оснований (BER) включает действие множества ферментов и отвечает за удаление из ДНК огромного числа повреждений. Необходимо отметить, что уменьшение общего уровня репарационной активности у человека может быть вызвано природными однонуклеотидными полиморфизмами (SNPs) в генах ферментов репарации ДНК. Действительно, SNPs широко распространены в популяции людей, а взаимосвязь между SNP и этиологией некоторых заболеваний человека остается открытой областью исследований. При этом один из актуальных вопросов заключается в выяснении роли SNPs в предрасположенности к развитию онкологических и нейродегенеративных заболеваний. Следует также отметить, что SNP-ассоциированные замены аминокислотных остатков ферментов репарации могут приводить как к потере функциональных свойств отдельных ферментов, так и нарушению белок-белковой координации участников процесса репарации.

В данной работе проведен систематический анализ природных полиморфных вариантов ряда ферментов эксцизионной репарации оснований ДНК человека, а именно урацил-ДНК-гликозилаз SMUG1 и MBD4, апуриновой/апиридинового эндонуклеазы APE1 и ДНК-полимеразы β . С использованием базы данных dbSNP NCBI было установлено, что в генах данных ферментов зарегистрированы тысячи SNPs. Методами биоинформационного и молекулярно-динамического анализа показано, что некоторые из них могут оказывать влияние на эффективность действия ферментов. Экспериментальный анализ 26 рекомбинантных полиморфных вариантов SMUG1, MBD4, APE1 и Pol β выявил существенное влияние ряда природных замен как на каталитическую активность ферментов, так и на их координацию с другими участниками процесса репарации. В ходе работы создан и апробирован способ определения активности ферментов-участников начальных стадий BER в клетках человека. В перспективе полученные данные могут выступить основой для создания маркерной панели SNPs, приводящих к повышенному риску развития заболеваний, ассоциированных с накоплением мутаций в ДНК.



Роль ДНК-лигаз человека в обеспечении точности и эффективности процесса эксцизионной репарации оснований ДНК

Н.А. Моор¹, И.А. Васильева¹, О.И. Лаврик¹

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского Отделения Российской Академии Наук
moor@niboch.nsc.ru

ДНК-лигазы I и III α (LigI, LigIII α) являются наряду с ДНК-полимеразами основными факторами точности процесса эксцизионной репарации поврежденных оснований ДНК (BER) у млекопитающих. Два структурно различных фермента участвуют в процессе BER по различным маршрутам, но их функции перекрываются. Мы сравнили активность LigI и LigIII α человека в лигировании различных субстратов, имитирующих промежуточные соединения «короткозаплаточного» и «длиннозаплаточного» маршрутов BER (SP/LP). Ферменты по-разному распознают «мис-матч» в одноцепочечном разрыве, в зависимости от его природы и положения, но оба более селективны в отношении некомплементарности 3'-конца. LigIII α менее активна, чем LigI, в неспецифичном лигировании однонуклеотидных «брешей» в ДНК и более эффективно дискриминирует ошибочные продукты их застраивания (катализируемого ДНК-полимеразой β), что указывает на ведущую роль LigIII α в точности процесса BER. LigI и LigIII α лигируют ДНК-интермедиат LP BER с расщепленным синтетическим AP-сайтом (F) с различной эффективностью, в зависимости от сиквенс-контекста ДНК, наличия «мис-матча» на 3'-конце и сочетания реакции лигирования с репаративным синтезом. Процессинг этого промежуточного продукта в отсутствие флэп-эндонуклеазы 1 приводит к образованию неканонических ДНК, которые очень неэффективно репарируются AP-эндонуклеазой 1 и представляют собой потенциальные мутагены. Впервые показано, что степень превращения различных субстратов в конечный продукт из промежуточных продуктов аденилирования по 5'-концу в разрыве зависит от контекста ДНК. LigI более чувствительна к последовательности ДНК, что обусловлено структурной особенностью фермента. LigIII α превосходит LigI в abortивном лигировании, что указывает на необходимость согласованного действия LigIII α и апратаксина (ответственного за деаденилирование 5'-конца в разрыве) для эффективной репарации ДНК, которое обеспечивается их функционированием в комплексе с белком XRCC1.

1. Васильева И. А., Моор Н. А., Лаврик О. И. // Биохимия, 2020, **85**, 335–347.
2. Moor N. A., Vasil'eva I. A., Lavrik O. I. // Biochimie, 2024, **219**, 84–95.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 21-64-00017.



Роль РНК-связывающего белка YB-1 в регуляции активности поли(ADP-рибоза)полимеразы 1

К.Н. Науменко¹, М.В. Суханова¹, О.И. Лаврик¹

¹ *Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, 630090, Россия*

k-naumenko@mail.ru

ДНК в организме человека постоянно находится под воздействием повреждающих экзогенных и эндогенных агентов. В отличие от других биомолекул (РНК, белков, липидов и т.д.), повреждённая ДНК не подлежит замене, и по этой причине сохранность её структуры полностью зависит от процесса репарации. Одним из ключевых регуляторов процессов репарации является поли(ADP-рибоза)полимераза 1 (PARP1) — белок, вовлеченный в процесс детекции разрывов ДНК за счет синтеза поли(ADP-рибозы) (PAR) в районе сайта повреждения ДНК. Синтез PAR является одним из наиболее ранних событий, происходящих в ходе клеточного ответа на повреждение ДНК. Регуляторная функция в клетке, выполняемая PARP1 и PAR, очень многогранна, поэтому идентификация и изучение белков, влияющих на активность PARP1 и синтез PAR в ответ на генотоксический стресс, является важной задачей в современной биологии.

В настоящее время многие РНК-связывающие белки рассматриваются как возможные участники поддержания стабильности генома, поскольку повышенное содержание определенных РНК-связывающих белков в онкотрансформированных клетках часто коррелирует с резистентностью опухолей к радио- и химиотерапии. Кроме того, многие из них являются мишенями поли(ADP-рибозил)ирования или способны взаимодействовать с PAR. Одним из таких РНК-связывающих белков является мультифункциональный Y-бокс-связывающий белок 1 (YB-1).

Представленная работа является первым детальным исследованием механизма влияния РНК-связывающего белка YB-1 на активность PARP1. Установлено, что YB-1 способен регулировать активность PARP1 посредством формирования тройного комплекса YB-1·PARP1·ДНК или через взаимодействие YB-1 с авто-поли(ADP-рибозил)ированной формой PARP1. Проведенное исследование позволяет глубже понять молекулярный механизм регуляции активности PARP1 в присутствии РНК-связывающих белков, которые способны взаимодействовать как с повреждённой ДНК, так и поли(ADP-рибозой), формирующейся в процессе активации PARP1.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 22-14-00112.



Митотическая нестабильность кольцевых хромосом в условиях индуцированной плюрипотентности

Т.В. Никитина¹, М.М. Гридина², А.А. Кашеварова¹, Т.В. Карамышева², А.Р. Нурисламов^{2 3},
Ю.М. Минина², А.Г. Мензоров^{2 3}, А.А. Хабарова², Ю.С. Яковлева^{1 4}, П.С. Зубченко⁴, Н.Б. Рубцов²,
О.Л. Серов^{2 3}, И.Н. Лебедев¹

¹ НИИ медицинской генетики, Томский НИМЦ, Россия, Томск, наб. Ушайки, 10

² ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10

³ Новосибирский государственный университет, Россия, Новосибирск, ул. Пирогова, 1

⁴ Сибирский государственный медицинский университет, Россия, Томск, Московский тракт, 2

t.nikitina@medgenetics.ru

Кольцевые хромосомы (КХ) человека могут быть конституциональными (частота 1:50000) или сверхчисленными маркерными хромосомами (sSMC). Для клеток, несущих КХ, характерно явление «динамического мозаицизма». Мы изучили митотическую стабильность четырех конституциональных КХ (8, 13, 18 и 22) в длительных культурах фибробластов кожи пациентов и в ИПСК методами GTG-кариотипирования на разных пассажах, aCGH и FISH; и двух кольцевых sSMC (4 и 10).

В культурах фибробластов с конституциональными КХ наблюдались потери, амплификация и вторичные aberrации КХ, в т.ч. фрагментация и транслокация. В ИПСК были выявлены значительные различия по уровню митотической нестабильности на хромосомном и микроструктурном уровне. Зарегистрирована спонтанная коррекция кариотипа 46, XY, r(8) до 46, XY в шести линиях ИПСК за счет потери КХ и дупликации нормального гомолога. Анализ распределения генотипов на SNP-чипах подтвердил isoUPD(8) pat.

В то же время в ИПСК от пациента с sSMC(4) одна линия сохранила sSMC в 76% клеток, две другие потеряли ее в ходе культивирования с формированием нормального кариотипа. В клетках крови плода с sSMC(10) обнаружена нестабильность и структурный мозаицизм sSMC, следствием чего стала ее потеря в части клеток и восстановление нормального хромосомного набора: mos 47, XX,+mar[18]/46, XX[5] при инвазивной пренатальной диагностике. Отсутствие клинических проявлений у носителей данных sSMC, содержащих более сотни генов, в том числе входящих в OMIM, может объясняться эпигенетическим сайленсингом генов в прицентромерном регионе маркерной КХ.

Вариабельность митотического «поведения», обнаруженная в культурах фибробластов и ИПСК, может быть интересна для изучения особенностей генерации хромосомного мозаицизма.

Работа поддержана грантом РФФ 21-65-00017.



Влияние модуляции биосинтеза NAD на поддержание стабильности генома в клетках человека в условиях генотоксического стресса

М.П. Светлова¹, Л.В. Соловьева¹, В.А. Куликова¹, А.А. Никифоров¹

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

nikiforovan@hotmail.com

Никотинамидадениндинуклеотид (NAD) играет ключевую роль в клеточном метаболизме, а также является субстратом для нескольких семейств ферментов, таких, как деацетилазы белков сиртуины (SIRT) и поли(ADP-рибозил)полимеразы (PARPs), которые участвуют в регуляции многих жизненно необходимых процессов, в том числе репарации одно- и двуниевых разрывов (ДР) ДНК. Реакции, катализируемые данными ферментами, сопряжены с расщеплением NAD до никотинамида и ADP-рибозы, поэтому для эффективного осуществления NAD-зависимых функций клетке необходимо постоянно поддерживать определенный уровень NAD при помощи его синтеза из никотинамида и других производных витамина В3. Основным «потребителем» NAD в клетке является ядерный белок PARP1, который гиперактивируется в ответ на появление разрывов ДНК, что может приводить к значительному падению уровня внутриклеточного NAD. В результате этого нарушается работа ферментов, каталитическая активность которых зависит от NAD, в том числе самого PARP1 и других NAD-зависимых PARPs и SIRT, участвующих в ответе клетки на повреждение ДНК.

В данной работе мы изучали влияние фармакологической модуляции биосинтеза NAD на поддержание стабильности генома в дермальных фибробластах человека (ДФЧ) после действия ионизирующего излучения (IR) и H₂O₂. Мы продемонстрировали, что стимуляция синтеза NAD нуклеозидной формой витамина В3 — никотинамидрибозидом (NR) — значительно увеличивает уровень внутриклеточного NAD, но не влияет на эффективность репарации ДР в ДФЧ после действия IR в дозе 1 Гр. Более того, после обработки клеток IR в дозе 1 и 5 Гр существенного падения уровня внутриклеточного NAD не наблюдалось. Также мы установили, что в условиях критического снижения уровня NAD после подавления его синтеза из никотинамида ингибитором никотинамидфосфорибозилтрансферазы (FK866) ДФЧ репарируют ДР, индуцированные IR, однако в клетках с нормальным уровнем NAD данная репарация проходит более эффективно. Эти результаты свидетельствуют о том, что NAD-зависимые процессы, такие как ADP-рибозилирование и деацетилирование белков, могут являться важными, но не определяющими факторами, контролирующими репарацию ДР, индуцированных умеренными дозами IR. В отличие от IR, обработка ДФЧ 200–400 мМ H₂O₂ приводила к быстрому падению концентрации внутриклеточного NAD. В присутствии NR в питательной среде истощение внутриклеточного пула NAD после обработки клеток H₂O₂ носило гораздо менее выраженный характер. При помощи метода ДНК-комет в щелочных условиях мы показали, что предварительная обработка ДФЧ NR увеличивает эффективность репарации H₂O₂-индуцированных повреждений ДНК, тогда как после подавления синтеза NAD ингибитором FK866 клетки теряют способность репарировать данные повреждения. Таким образом, поддержание оптимального уровня NAD в клетке является необходимым условием для эффективного восстановления целостности генома в условиях генотоксического стресса, вызванного H₂O₂.



Роль некаталитических доменов ДНК-полимеразы λ во взаимодействии с регуляторными белками репарации

Н.И. Речкунова¹, Е.А. Мальцева¹, Н.А. Лебедева¹, О.И. Лаврик¹

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН
nadyarec@niboch.nsc.ru

ДНК-полимераза λ (Pol λ) относится к структурному X-семейству, как и ДНК-полимераза β (Pol β) — основная полимеразы в системе эксцизионной репарации оснований (BER). Оба фермента обладают активностями, необходимыми для репаративного синтеза: катализируют синтез ДНК в бреши, в том числе на поврежденных матрицах, обладают 5'-dRP-лиазной активностью, а также способны вести синтез с вытеснением цепи [1]. Роль Pol λ в процессе BER остается не до конца выясненной. Основное отличие этих ДНК-полимераз заключается в наличии в структуре Pol λ некаталитического N-концевого участка, включающего BRCT-домен и серин/пролин-богатую область. С одной стороны, эти домены влияют на каталитическую активность фермента [2], а с другой — могут участвовать во взаимодействии с факторами репарации и подвергаться посттрансляционным модификациям. Проведен анализ влияния регуляторных белков — поли(ADP-рибоза)полимераз 1 и 2, репликативного белка A и XRCC1 — белка-платформы BER — на активность полноразмерной Pol λ и мутантной формы, лишенной N-концевых доменов (Pol $\Delta\lambda$), в сравнении с Pol β . Удаление некаталитических доменов Pol λ приводит к увеличению активности фермента, а также изменению взаимодействия с другими белками — их влияние на активность Pol $\Delta\lambda$ в большей степени совпадает с характером влияния на Pol β , чем на Pol λ . Впервые показана стимуляция активности Pol λ в присутствии XRCC1. Показано прямое взаимодействие между XRCC1 и Pol λ , эффективность которого значительно снижается после удаления N-концевого участка Pol λ . В условиях стимуляции активности Pol λ наблюдается микрофазовое расслоение, вызванное взаимодействием XRCC1 с поврежденной ДНК. Обнаружена ко-локализация Pol λ , XRCC1 и поврежденной ДНК внутри микрокапель. Таким образом, стимуляция активности Pol λ обусловлена как взаимодействием с XRCC1 с участием некаталитических доменов, так и специфическими условиями микрофазового расслоения.

[1] Belousova E. A., Lavrik O. I. // DNA Repair, 2015, **29**, 112.

[1] Rechkunova N. I., Zhdanova P. V., Lebedeva N. A., Maltseva E. A., Koval V. V., Lavrik O. I. // DNA Repair, 2022, **116**, 103353.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ, проект 21-64-00017.



Окислительный стресс и дестабилизация генома *Rhodococcus erythropolis* под воздействием углеводородных субстратов

И.С. Сазыкин¹, А.Р. Лицевич¹, Л.Е. Хмелевцова¹, Е.Р. Чернышенко¹, М.А. Сазыкина¹

¹ Южный федеральный университет
zebra-sis@ya.ru

При окислении углеводородов (УВ) в бактериальной клетке генерируются активные формы кислорода (АФК). АФК повреждают ДНК микроорганизмов. При этом клетка активирует антиоксидантные регулоны (SoxRS, OxyR и др.), а также стресс-регулоны (SOS-ответ, RpoS и RpoE), защищающие компоненты клетки и репарирующие ДНК. Молекулярные механизмы стресс-ответа, а также дестабилизации генома и ускорения адаптивной эволюции грамположительных нефтедеструкторов при взаимодействии с поллютантами являются крайне малоисследованными вопросами. Целью данной работы стало изучение изменения экспрессии стрессовых генов при воздействии углеводородов различных структурных классов (декан, гексадекан, циклогексан, бензол, нафталин, антрацен и дизельное топливо (ДТ)) на планктонную культуру *Rhodococcus erythropolis*.

В результате исследований было отмечено усиление экспрессии гена *soxR* в присутствии алканов, а гена *oxyR* в присутствии ароматических УВ. Экспрессия гена *sodC* (Cu-Zn супероксиддисмутаза (СОД)) возрастала в присутствии большинства УВ субстратов. Экспрессия *sodA* (Fe-Mn СОД) увеличивалась преимущественно в присутствии гексадекана. Ген монофункциональной каталазы *katE* усиливал экспрессию в присутствии ароматических УВ, в то время как экспрессия *katG* (каталаза-пероксидаза) возрастает лишь в присутствии циклогексана.

Экспрессия гена *recA* увеличивалась в присутствии различных УВ (ароматических и алканов), но более всего — ДТ. Экспрессия *sigB/F/G* (аналог *RpoS E. coli*) подавлялась деканом, бензолом и циклогексаном и несколько увеличивалась в присутствии гексадекана и нафталина. Ген *sigH* (аналог *RpoE E. coli*) в разной степени повышал экспрессию при инкубации родококка совсеми УВ, кроме ДТ. Экспрессия гена транслезионной ДНК-полимеразы IV (*dinB*) сильно возрастала в присутствии нафталина и бензола, и подавлялась циклогексаном и ДТ.

Все исследованные УВ вызывают окислительный стресс у *R.erythropolis*, однако отмечается преобладание супероксидного стресса в присутствии декана и гексадекана, для циклогексана, нафталина и антрацена более характерен пероксидный стресс.

В результате проведенного корреляционного анализа экспрессии стрессовых генов при воздействии углеводородов установлена значительная роль *sigB/F/G* и *soxR* в регуляции ответа на окислительный стресс (*katE*, *katG*, *sodA*) и транслезионной репарации ДНК (*dinB*). Транслезионная репарация ДНК у родококка регулируется *sigB/F/G*, но не SOS-ответом (*recA*) и преимущественно активируется при пероксидном стрессе.



Анализ мутаций генов гиногенеза и *FIE* у кукурузы

М.И. Чумаков¹

¹ Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук

chumakovmi@gmail.com

В докладе дан анализ мутаций у генов гиногенеза и генов *FIE* (*Fertilization Independent Endosperm*) у линий кукурузы. При гиногенезе в развитии зародыша участвует только ядро яйцеклетки. При матроклинном партеногенезе происходит спонтанное развитие эндосперма без опыления. Показано, что гаплоиндуцирующие (ГИ) линии кукурузы ЗМС-8 и ЗМСП имели 14 одинаковых однонуклеотидных замен (ОНЗ) и четырехнуклеотидную вставку в гене *MTL/NLD/PLA1*, как и их предок — линия Stock 6. В результате этой вставки 3D модель белка *MTL/NLD/PLA1* у ГИ линий имеет 20 α -спиралей, тогда как у белка референсной линии В73-24 α -спирали [1].

Установлено, что ген *GEX2*, контролирующей адгезию мембран гамет кукурузы у ГИ линии ЗМСП, имеет высокий полиморфизм: 27 ОНЗ, вставку размером в 9 нуклеотидов и одну двухнуклеотидную замену, по сравнению с линией В73 [2]. Впервые для CRISPR/Cas9-редактирования гена *GEX2* кукурузы подобраны гидРНК, их эффективность в РНП-комплексах на протопластах кукурузы достигает 11%, в зависимости от соотношения и количества компонентов в РНП-комплексах [3].

Показано, что белок HAP2/GCS1, обеспечивающий слияние мембран гамет кукурузы, у ГИ линии ЗМСП является высококонсервативным и имеет только одну аминокислотную замену, по сравнению с линиями В73 и КМ. Получены данные по полиморфизму генов *FIE1* и *FIE2* кукурузы и построены 3D модели FIE белков.

- [1] Моисеева Е. М., Фадеев В. В., Красова Ю. В., Чумаков М. И. Анализ мутаций у генов гиногенеза и партеногенеза кукурузы // Генетика. 2023. Т. 59, № 9. С. 1090–1093. doi: 10.31857/S0016675823090084.
- [2] Моисеева Е. М., Гусев Ю. С., Гуторова О. В., Чумаков М. И. Сравнительный анализ экспрессии генов HAP2/GCS1, GEX2 у линий кукурузы саратовской селекции // Генетика. 2023. Т. 59, № 3. С. 327–335. doi:10.31857/S0016675823030098.
- [3] Моисеева Е. М., Фадеев В. В., Фадеева Ю. В., Гусев Ю. С., Чумаков М. И. Анализ эффективности CRISPR/Cas9-редактирования рибонуклеопротеидными комплексами гена GEX2 в протопластах кукурузы // Генетика. 2024. Т. 60. (принята в печать).

Исследование выполнено по Программе фундаментальных исследований Государственных академий наук на 2021–2023 гг. (№ 121031700141-7) и 2024–2026 гг. (№ 1022040700974-4).



Изучение влияния состояния хроматина на мутагенную активность цитозиндезаминаз семейства AID/АРОВЕС на модели дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

А.Е. Шипунова¹, И.В. Зотова^{1,2}, Е.И. Степченкова^{1,2}

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

² Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

shipunova287@gmail.com

В организме человека обнаружено 11 ферментов семейства AID/АРОВЕС, которые осуществляют реакцию дезаминирования цитозина до урацила в составе нуклеиновых кислот в ходе ряда физиологических процессов. Цитозиндезаминазы AID/АРОВЕС — эндогенные мутаторы, поскольку дезаминирование цитозина в ДНК приводит к транзициям CG→TA. Нарушение регуляции активности дезаминаз может привести к неспецифическому дезаминированию цитозина в геномной ДНК и запуску онкологической трансформации клетки [1]. Известно, что ферменты AID/АРОВЕС дезаминируют цитозин только в составе одонитевой ДНК или РНК, а эухроматиновые участки, на которых активно происходит синтез ДНК или РНК в ходе матричных процессов, более восприимчивы к мутагенному действию дезаминаз [2]. Поэтому можно предположить, что динамика состояния хроматина при смене стадий клеточного цикла, оказывает существенное влияние на мутагенную активность ферментов AID/АРОВЕС.

Целью нашей работы стало исследование уровня мутагенной активности цитозиндезаминаз семейства AID/АРОВЕС в зависимости от изменения состояния хроматина, происходящего в ходе клеточного цикла у дрожжей *S. cerevisiae*.

В исследовании мы использовали следующие подходы: (а) изучение мутагенной активности цитозиндезаминаз PmCDA, AID и АРОВЕС3А у штаммов дрожжей, несущих мутации по генам, контролирующим статус хроматина и накопление одонитевых участков ДНК (*CDC28*; *HST3,4*); (б) оценка частоты мутагенеза у штаммов дрожжей *S. cerevisiae*, у которых экспрессия генов цитозиндезаминаз осуществляется строго на одной из стадий клеточного цикла. Полученные результаты позволили идентифицировать гены, в наибольшей степени влияющие на мутагенную активность AID/АРОВЕС на разных стадиях клеточного цикла.

Таким образом, динамика хроматина в ходе клеточного цикла существенным образом модифицирует мутагенную активность цитозиндезаминаз, что может быть использовано при разработке подходов для лечения онкологических заболеваний.

1. Starrett, G. J. et al. // Nature communications. — 2016. 7, 12918.
2. Lada, A. G., et al. // PLoS genetics. — 2015. 1(5): e1005217.

При поддержке гранта РФФ 20-15-00081.

Симпозиум 12: **Генетика надорганизменных систем**
Symposium 12: **Genetics of Supraorganismal Systems**



Согласование разнообразий в растительно-микробных системах

Е.Е. Андронов¹, А.А. Иголкина¹, А.О. Зверев¹, Е.П. Чижевская¹, Н.А. Проворов¹

¹ ФГБНУ ВНИИСХМ, Пушкин

eeandr@gmail.com

В настоящем сообщении представлены данные, полученные авторами в течение ряда лет, демонстрирующие высокую согласованность разнообразий в сопряженных популяциях бобовых растений и ассоциированных с ними ризобий. Первое наблюдение, опубликованное в 2003 году (Andronov et al., 2003), показало, что на Северном Кавказе, в ареалах произрастания восточного и лекарственного козлятника, наблюдается соответствие между морфологическим разнообразием популяций растений-хозяев и генетическим разнообразием популяций их микросимбионтов. В дальнейшем эти соотношения были уточнены при анализе молекулярного разнообразия популяций козлятника (Österman et al., 2011), включающем анализ геномных фингерпринтов и нуклеотидных последовательностей рецепторных генов растений.

Анализ феномена согласования разнообразий был подтвержден в рамках более детального исследования популяций трех бобовых растений (вика, клевер, чина) и их ризобийных микросимбионтов, произрастающих на одном компактном участке (Igolkina et al., 2019), где была показана не только монотонная связь нуклеотидных полиморфизмов популяций партнеров по симбиозу, но и топологическое согласование их филогений, что привело к описанию явления «эволюционного прессформинга», при котором популяция одного из симбионтов становится своеобразной «матрицей», по образу которой формируется разнообразие второго партнера. Кроме того, в рамках данного исследования был предложен новый тип разнообразия, описывающий взаимодействие партнеров в ситуациях такого рода — «топологическое бета-разнообразие».

Механизмы эволюционного прессформинга были раскрыты в работе, демонстрирующей молекулярные механизмы согласования разнообразий макро- и микросимбионта на впервые выполненной проекции природного полиморфизма симбиотического рецепторного гена вики на контактную поверхность рецепторного димера, полученную в результате молекулярного моделирования и докинга Nod-фактора (Igolkina et al., 2018). Очевидно, что главным фактором, обеспечивающим согласование разнообразий партнеров, является функциональная интеграция надорганизменной системы, формируемой партнерами по симбиозу, в которой тесная подгонка функциональных систем партнеров неизбежно приводит к согласованию разнообразий в сопряженных популяциях.

В качестве «негативного контроля», демонстрирующего отсутствие эффектов согласования разнообразий, является исследование, посвященное анализу связи разнообразия ризосферного микробиома с разнообразием растительной синузии, на корневой системе которой данный микробиом сформирован (Zverev et al., 2021).

1. Andronov E. E., et al. // *Appl Environ Microbiol.* 2003;69(2):1067-1074. doi:10.1128/AEM.69.2.1067-1074.2003.
2. Österman J., et al. // *Mol Ecol.* 2011;20(22):4808-4821. doi:10.1111/j.1365-294X.2011.05291.x.
3. Igolkina A. A., et al. // *Ecol Evol.* 2019;9(18):10377-10386. Published 2019 Aug 30. doi:10.1002/ece3.5556.
4. Igolkina A. A., et al. // *Front Plant Sci.* 2018;9:344. Published 2018 Apr 11. doi:10.3389/fpls.2018.00344.
5. Zverev A. O., et al. // *Microorganisms.* 2021;9(11):2339. Published 2021 Nov 12. doi:10.3390/microorganisms911233.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения No 075-15-2022-320 от 20.04.2022 г. о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».



Влияние эндосимбиотической бактерии *Wolbachia* на дифференциальную экспрессию генов, метаболизм и поведение *Drosophila melanogaster*

Н. Е. Груntenко¹, М. А. Дерюженко¹, О. В. Андреенкова¹, О. Д. Шишкина¹, Е. К. Карпова¹, Е. В. Бурдина¹,
М. А. Бобровских¹, Л. П. Захаренко¹, Г. В. Васильев¹, Н. В. Шацкая¹

¹ ФИЦ «Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия

nataly@bionet.nsc.ru

Матерински наследуемая эндосимбиотическая бактерия *Wolbachia* крайне широко распространена у различных видов беспозвоночных. Показано, что она способна манипулировать репродуктивной системой хозяина, успешно распространяясь в его популяциях. Однако данные о том, какую выгоду этот симбиоз приносит хозяину, до сих пор достаточно противоречивы. В поисках возможных преимуществ, которые *Wolbachia* может обеспечивать своему носителю, мы исследовали дифференциальную экспрессию генов, углеводно-жировой метаболизм и ряд физиологических характеристик нескольких линий модельного вида *Drosophila melanogaster*, имеющих один и тот же ядерный фон (линии дикого типа Vi90) и несущих цитоплазму с различными штаммами *Wolbachia*. Полученные данные свидетельствуют о выраженном влиянии бактерии на экспрессию генов щелочных фосфатаз и их активность, экспрессию генов, задействованных в эмбриогенезе, окислительно-восстановительных процессах, пищеварении, транспорте и метаболизме углеводов. Эти изменения сопровождаются повышением веса мух и содержания у них глюкозы, общих липидов и триглицеридов, коррелирующим с увеличенной устойчивостью к голоданию, что в значительной мере отвечает на вопрос о пользе симбиоза с *Wolbachia* для насекомого-хозяина. Следует отметить, что у инфицированных мух достоверно снижено потребление пищи, что несколько противоречит наблюдаемому у них ожирению; однако последнее может объясняться значительным снижением двигательной активности у мух с *Wolbachia*.



Регуляция иммунного ответа у бобовых растений при развитии эффективного внутриклеточного симбиоза с ризобиями

Е.А. Долгих^{1,2}, А.М. Дымо¹, О.А. Павлова¹, Н.В. Козлов¹, А.А. Шалякина¹, Е.А. Сальникова¹

¹ ФГБНУ ВНИИСХМ, лаборатория сигнальной регуляции, Санкт-Петербург

² Научно-технологический университет «Сириус», пгт. Сириус

dol2helen@yahoo.com

Развитие внутриклеточных симбиозов связано со способностью микросимбионтов подавлять защитные системы растений и преодолевать их устойчивость к инфекции. Однако механизмы регуляции иммунного ответа у растений микросимбионтами остаются малоизученными. Недавние исследования выявили способность бактериальных сигнальных молекул Nod-факторов подавлять иммунный ответ у широкого круга растений. Однако рецепторы и регуляторы этого процесса у бобовых растений до сих пор остаются неизвестными. Высказано предположение, что подавление иммунного ответа Nod-факторами может быть связано с их влиянием на стабильность паттерн-распознающих рецепторов (ППР) и активность основных регуляторов сигнальных путей — митоген-активируемых протеинкиназ (МАР-киназ). С помощью транскриптомного и протеомного подходов были идентифицированы несколько кандидатов на роль регуляторов стабильности ППП и МАР-киназ, таких, как убиквитин-лигазы и фосфатазы, которые активируются под влиянием Nod-факторов. Кроме того, у растений гороха *Pisum sativum* и люцерны усеченной *Medicago truncatula* был идентифицирован новый LysM-содержащий рецептор, участвующий в подавлении иммунитета при развитии симбиоза.

Известно, что в подавлении иммунного ответа у растений могут участвовать и эффекторы микроорганизмов, которые непосредственно доставляются в клетки растений-хозяев. Однако преимущественно влияние эффекторов изучено для патогенов, а о способности симбиотических микроорганизмов секретировать эффекторы и влиять на развитие защитных реакций у растений-хозяев известно мало. В узнавании эффекторов участвуют специальные растительные рецепторы класса NLR, активирующие сильный иммунный ответ, препятствующий проникновению микроорганизма в инфицированную клетку. Ризобии могут влиять на содержание NLR-рецепторов и восприимчивость растений к инфекции. В связи с этим нами было изучено разнообразие NLR-рецепторов у растений гороха и их роль в регуляции ризобиальной инфекции. Это позволило выявить ключевые гены *NLR*, подавление которых поможет повысить эффективность бобово-ризобиального симбиоза.

Работа поддержана грантом РНФ 24-16-00180.



Молекулярно-генетические основы симбиотической отзывчивости гороха посевного (*Pisum sativum* L.)

В.А. Жуков^{1 2 5}, Е.А. Зорин¹, А.С. Сулима¹, Н.О. Ерофеева³, Н.В. Фролова⁴, А.И. Жернаков¹, Д.О. Кузьмина¹, В.А. Ракова¹, Е.А. Алексеева¹, М.Л. Гордон², А.В. Соболева⁴, Е.М. Лукашева³, С.А. Силинская⁴, К.В. Данько³, М.А. Черевацкая³, Д.А. Романюк¹, М.С. Клюкова¹, Г.А. Ахтемова¹, О.А. Кулаева¹, А.А. Орлова⁴, Т.Е. Билова^{3 4}, А.А. Фролов⁴, О.Ю. Штарк¹, И.А. Тихонович^{1 3 5}

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии (ФГБНУ ВНИИСХМ), Санкт-Петербург

² Всероссийский институт генетических ресурсов растений (ВИР), Санкт-Петербург

³ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

⁴ Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва

⁵ Университет Сириус, Сириус

vzhukov@arriam.ru

Горох посевной (*Pisum sativum* L.) — важная сельскохозяйственная культура и удобный модельный объект для исследования взаимодействия бобовых растений с симбиотическими микроорганизмами — клубеньковыми бактериями и арбускулярно-микоризными грибами. Различные генотипы гороха имеют разную степень отзывчивости на инокуляцию полезными микроорганизмами, выражаемую в прибавке массы семян под воздействием инокуляции. Молекулярно-генетические основы данного признака практически не изучены. С применением «омиксных» подходов — геномики, транскриптомики, протеомики и метаболомики — и с использованием модельных систем — генотипов гороха, контрастных по признаку отзывчивости, — в данной работе установлено, что отзывчивость на инокуляцию складывается из следующих компонентов:

- 1) контроль со стороны растения над распространением микросимбионтов в тканях корня,
- 2) привлечение растением клубеньковых бактерий за счёт выделения молекул флавоноидной природы,
- 3) эффективность фиксации азота в клубеньках,
- 4) продление фазы налива семян под воздействием микросимбионтов.

Выявлены транскриптомные маркеры симбиотической отзывчивости, и один из них — ген *PsGER2* — конвертирован в ДНК-маркер для использования в селекционных программах. Проводится генетическое картирование QTL симбиотической отзывчивости с использованием созданной в данной работе популяции рекомбинантных инбредных линий.

Работа поддержана грантом РФФ 22-16-00109.



Биопрепараты комплексного действия в рамках биологизированной системы земледелия для управления почвенным плодородием и эффективной отдачи пашни

Р.П. Ибатуллина¹

¹ ООО «НПИ «Биопрепараты»

В докладе обсуждается ведущая роль микробно-растительных взаимодействий для улучшения питания и защиты растений на регулирование почвенно-микробиологических процессов для стабилизации и сохранения почвенного плодородия (разложение соломы).

Рассматриваются особенности подбора эффективных штаммов по степени отзывчивости на сортовые особенности и раскрытие генетического потенциала сортов сельскохозяйственных культур.

Проводится анализ апробированных современных способов комплексного действия микробиологических препаратов и удобрений.



Системный контроль развития симбиотических клубеньков на корнях бобовых растений с участием регуляторных пептидов CLE

М.А. Лебедева¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологии
m.a.lebedeva@spbu.ru

Бобовые растения вступают в симбиоз с почвенными бактериями-ризобиями для удовлетворения своих потребностей в азоте: в симбиотических органах, клубеньках, формирующихся на корнях бобовых растений, с участием бактерий происходит процесс азотфиксации. В связи с этим в ходе эволюции у бобовых растений выработались механизмы, регулирующие численность симбиотических клубеньков в зависимости от потребностей в азоте растения как целостного организма — на системном уровне. Важными участниками системного контроля развития симбиотических клубеньков являются пептиды CLE. Накапливаясь в корнях при запуске программы симбиоза и/или при наличии нитрата в среде, пептиды CLE способны к дальнему транспорту по ксилеме в побег, где при связывании со специфическими рецепторами эти пептиды запускают сигнальный ответ, подавляющий дальнейшее развитие симбиотических клубеньков на корнях.

У люцерны *Medicago truncatula* нами был охарактеризован ген *MtCLE35*, кодирующий пептид CLE — ингибитор клубенькообразования, экспрессия которого активировалась как при взаимодействии с ризобиями, так и нитратом [1]. Сверхэкспрессия *MtCLE35* подавляла развитие симбиотических клубеньков [1]. Кроме того, мы получили линии люцерны с нокаутированным в результате CRISPR-Cas9-опосредованного редактирования геном *MtCLE35*, которые характеризовались увеличением числа симбиотических клубеньков при наличии нитрата в среде, что указывает на ключевую роль этого гена в нитрат-зависимом контроле численности клубеньков [2]. На основании данных транскриптомного анализа мы выявили ключевые гены, экспрессия которых регулируется с участием сигнального пути, активируемого *MtCLE35* [3]. Помимо этого, нами были идентифицированы гены, кодирующие пептиды CLE — ингибиторы развития симбиотических клубеньков у гороха [4]. Результаты наших исследований позволили значительно расширить представления о механизмах контроля численности клубеньков у бобовых растений с участием пептидов CLE.

Исследования проведены при поддержке гранта Министерства образования РФ на создание научного центра мирового класса «Агротехнологии будущего» (соглашение № 075-15-2022–322 от 22.04.2022).

- [1] Lebedeva et al. // Plants 2020; 9(11)
- [2] Lebedeva et al. // Int. J. Mol. Sci. 2023; 24(16816)
- [3] Lebedeva et al. // J Plant Physiol. 2023;281:153922
- [4] Lebedeva et al. // Agronomy 2022; 12(11):2840.



Исследование защитных реакций в корнях люцерны *Medicago truncatula* при подавлении симбиоза с ризобиями вследствие сверхэкспрессии гена *MtCLE35* — системного ингибитора развития симбиотических клубеньков

В.А. Петренко¹, И.А. Ерофеев¹, М.А. Лебедева¹, Л.А. Лутова¹

¹ ФГБОУ ВО СПбГУ

drpetrenko@yandex.ru

Симбиоз растений семейства Fabaceae с азотфиксирующими бактериями — исключительное явление, позволяющее растениям за счёт эндогенных микросимбионтов усваивать атмосферный азот. Однако симбиотическая азотфиксация требует энергетических затрат от растений на развитие симбиотических клубеньков и поддержание их жизнедеятельности, в связи с чем у растений выработался регуляторный механизм, позволяющий контролировать численность образующихся клубеньков. Ключевую роль в этом процессе играют регуляторные пептиды семейства CLE. Ранее нами было показано, что сверхэкспрессия гена *MtCLE35*, кодирующего один из таких регуляторных пептидов, подавляет развитие симбиотических клубеньков [1]. Для выявления механизмов, лежащих в основе системного подавления симбиоза, опосредованного *MtCLE35*, нами был проведен транскриптомный анализ корней со сверхэкспрессией гена *MtCLE35* (35S:*MtCLE35*) (на таких корнях полностью подавлялось развитие симбиотических клубеньков), а также контрольных корней со сверхэкспрессией гена бета-глюкуронидазы при инокуляции ризобиями. Среди дифференциально экспрессирующихся генов, экспрессия которых была повышена в корнях 35S:*MtCLE35*, по сравнению с контролем, были выявлены гены, кодирующие компоненты антиоксидантной системы, в частности, тиоредоксин, гены, кодирующие пероксидазы, а также гены, кодирующие белки и пептиды, участвующие в формировании защитных реакций. На основе этого можно предположить, что один из возможных механизмов подавления симбиоза при сверхэкспрессии *MtCLE35* связан с индукцией образования активных форм кислорода, в частности, перекисных соединений в корнях люцерны. Для более детального изучения возможной роли пероксида водорода в ходе подавления развития симбиотических клубеньков у люцерны нами был сконструирован вектор для сверхэкспрессии *HyPer* — генетически кодируемого флуоресцентного биосенсора пероксида водорода [2]. В настоящее время получены растения-регенеранты, несущие конструкцию 35S:*HyPer*, и проводится их анализ. С помощью полученных растений мы планируем изучить динамику накопления перекисных соединений при симбиозе с ризобиями. Полученные данные позволят сделать вывод о роли перекисных соединений в системном подавлении развития симбиотических клубеньков, опосредованном регуляторными пептидами CLE.

Исследования проведены при поддержке гранта Министерства образования РФ на создание научного центра мирового класса «Агротехнологии будущего» (соглашение № 075-15-2022-322 от 22.04.2022).

[1] *Lebedeva, et al. Plants. 2020; 9(11)*

[2] *Belousov, et al. Nat Methods. 2006; 3(4):281–6.*



Молекулярно-генетические, экологические и эволюционные аспекты формирования акцессорной части пангенома клубеньковых бактерий

М. Л. Румянцева¹, М. Е. Владимирова¹, В. С. Мунтян¹

¹ ФГБНУ ВНИИСХМ

mroumiantseva@yandex.ru

Представления о молекулярно-генетических, экологических и эволюционных аспектах формирования пангенома прокариот сформировались в настоящее время на основе изучения геномов модельных объектов генетики, таких, как *Escherichia coli*, *Bacillus* spp. и *Streptococcus* spp., для которых показаны факторы приобретения и утраты генов, обуславливающих изменения в составе пангеномов. Пангеном разделяют на коровый геном, характерный для всех представителей соответствующей таксономической единицы, и акцессорный геном, обусловленный наличием штаммоспецифичных генов. Контрастные различия в соотношении информационной емкости между частями пангенома обусловило разделение пангеномов разных видов бактерий на закрытые и открытые, которые характерны, например, для микроорганизмов, адаптированных к узкому или широкому спектру экологических ниш, соответственно. Вместе с тем, для азотфиксирующих клубеньковых бактерий, являющихся типичными почвенными сапрофитами, но также формирующих эндосимбиоз с бобовыми растениями, знания о структуре и механизмах формирования их видоспецифичных пангеномов крайне ограничены. Клубеньковые бактерии вида *Sinorhizobium meliloti* широко распространены в почвенных микробиомах различных ценозов и формируют облигатный симбиоз с растениями трибы Клеверные, что обуславливает необходимость их адаптации к различным экологическим нишам. Популяции ризобий подвержены влиянию различных абиотических стресс факторов, обусловленных почвенно-климатическими условиями, их численность и генотипическое разнообразие находятся под непосредственным влиянием со стороны растения-хозяина. В докладе будет рассмотрен ряд вопросов, связанных с бактериально-фаговыми взаимодействиями, в том числе сайт-специфическая интеграция фагоподобных последовательностей в мультипартитный геном ризобий и формирование антифаговой защиты; с потенциальной функциональной значимостью ОРС, входящих в составе чужеродного генетического материала, и эволюционными аспектами формирования акцессорного генома, на примере анализа пула генов, вовлеченных в формирование стрессоустойчивости ризобий.

Работа выполнена при поддержке НЦМУ «Агротехнологии будущего» № 075-15-2022-320.



Динамика тубулинового цитоскелета в клетках клубеньков бобовых растений как основа их дифференцировки для размещения временных органелл — симбиосом

В.Е. Цыганов¹, А.Б. Китаева¹, П.Г. Кусакин¹, А.П. А.П. Горшков¹, Е.А. Киричек¹, А.В. Цыганова¹

¹ ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии,
Санкт-Петербург, Россия
vetsyganov@arriam.ru

Динамика тубулинового цитоскелета клеток в симбиотических клубеньках бобовых растений лежит в основе их дифференцировки. Сравнительный анализ организации тубулинового цитоскелета у семи видов бобовых растений, формирующих недетерминированные клубеньки (с продолжительной активностью меристемы), и четырех видов с детерминированными клубеньками (с ограниченной активностью меристемы) позволил выявить как общие, так и видоспецифические паттерны микротрубочек. В клетках меристемы в клубеньках всех анализируемых видов кортикальные микротрубочки формировали неупорядоченный паттерн (они располагались под разными углами), а эндоплазматические микротрубочки связывали ядро с периферией клетки. В инфицированных клетках в клубеньках всех изученных видов эндоплазматические микротрубочки были ассоциированы с инфекционными нитями и инфекционными каплями, определяя направление их роста. В неинфицированных клетках кортикальные микротрубочки формировали нерегулярный паттерн в клубеньках *Glycine max* и *G. soja*, в то время как для остальных видов был характерен регулярный паттерн (микротрубочки были ориентированы поперечно продольной оси клетки). В недетерминированных клубеньках в инфицированных клетках микротрубочки формировали неупорядоченный паттерн, а в зрелых детерминированных — упорядоченный. Выявленные различия в организации кортикальных микротрубочек в различных типах клубеньков указывают на возможный переход в ходе эволюции инфицированных клеток от анизотропного роста в детерминированных клубеньках к изодиаметрическому росту в недетерминированных клубеньках. Можно предположить, что этот переход обеспечил некоторое эволюционное преимущество видам Бобовых с недетерминированными клубеньками, например, позволяя им более эффективно размещать симбиосомы в инфицированных клетках.

Исследования были поддержаны грантом РНФ № 24-16-00156.



Видовая изменчивость компонентов симбиотического интерфейса в клубеньках Бобовых

А.В. Цыганова¹, Е.В. Селиверстова², В.Е. Цыганов¹

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии

² Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Институт эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова РАН

avtsyganova@arriam.ru

В последние годы идеи Н. И. Вавилова, приведшие к развитию сравнительной генетики, воплощаются в сравнительной клеточной биологии. В том числе активно развивается сравнительная клеточная биология бобовых растений, в частности изучение бобово-ризобияльного симбиоза.

В ходе данной работы была изучена организация симбиотического интерфейса (поверхности взаимодействия макро- и микросимбионтов) у видов Бобовых, формирующих клубеньки детерминированного типа: соя (*Glycine max*), и недетерминированного типа: люцерна слабоусеченная (*Medicago truncatula*), горох посевной (*Pisum sativum*), козлятник восточный (*Galega orientalis*), вика мохнатая (*Vicia villosa*) и вавиловия прекрасная (*Vavilovia formosa*).

Анализ широкого спектра компонентов симбиотического интерфейса: пектинов (гомогалактуронана, рамногалактуронана I), гемицеллюлозы (фукозилированного ксилоглюкана), арабиногалактановых белков и арабиногалактанпротеин-экстензинов выявил наряду с общими видоспецифические компоненты. Так, в недетерминированных клубеньках присутствовала линейная галактановая боковая цепь рамногалактуронана I в стенках инфекционных нитей, которая в детерминированных клубеньках определялась в клеточных стенках неинфицированных клеток, а в стенках инфекционных нитей накапливался фукозилированный ксилоглюкан. Между видами Бобовых, формирующих клубеньки недетерминированного типа, также были определены видоспецифические различия, а именно у *M. truncatula* в стенках инфекционных нитей отсутствовала галактановая боковая цепь рамногалактуронана I, а у *P. sativum* на симбиотической мембране присутствовал арабиногалактановый белок с гликозилфосфатидилинозитоловым якорем. Наличие арабинанов является общим признаком для симбиоза в детерминированных клубеньках и ювенильных симбиоза в недетерминированных клубеньках.

Таким образом, сравнительные исследования симбиотического интерфейса различных видов Бобовых выявили видоспецифичность проявления признаков, связанных с модификациями апопласта и симбиотических мембран, участвующих в транспорте метаболитов азота, образующихся в результате азотфиксации.

Исследования были поддержаны грантом РФФИ № 23-16-00090.



Анализ адаптационно-значимого для хозяина штамма wMelPlus эндосимбиотической бактерии *Wolbachia* и его влияния на транскриптом *Drosophila melanogaster*

О.Д. Шишкина^{1 2}, М.А. Дерюженко², О.В. Андреевкова², М.А. Бобровских², Н.В. Шацкая²,
Г.В. Васильев², А.И. Клименко², А.Е. Коренская¹, Н.Е. Груntenко²

¹ Новосибирский Государственный Университет, Новосибирск, Россия

² ФИЦ «Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия

shishkina.olga.98@gmail.com

Тесные отношения между внутриклеточными симбионтами и их животными-хозяевами являются важными биотическими факторами, оказывающими влияние на оба организма в системе. Род *Wolbachia* представлен множеством штаммов внутриклеточных симбиотических бактерий. Новые данные о штаммах *Wolbachia*, которые имеют положительный эффект на хозяина, заставляют пересмотреть привычное представление об этой бактерии как о паразите насекомых.

Был найден штамм *Wolbachia* (wMelPlus), повышающий устойчивость *Drosophila melanogaster* к острому тепловому стрессу. Показано, что этот штамм значительно отличается от штаммов, не оказывающих такого эффекта, инверсией протяженностью в 1/6 всего генома. Транскриптомный анализ линий *Drosophila melanogaster*, инфицированных штаммом wMelPlus и не влияющим на приспособленность хозяина штаммом wMelCS¹¹², выявил, что ответ на инфекцию затрагивает более 100 генов. Сравнительный анализ транскриптомов мух, инфицированных штаммами wMelPlus и wMelCS¹¹², показал значимые различия в уровнях транскрипции генов, связанных с ответом на стресс. В частности, наибольший интерес вызывает повышение экспрессии гена рецептора к коразонину у wMelPlus-инфицированных мух. Мы предполагаем, что изменения в регуляции генов *Wolbachia*, возникшие в результате перестройки бактериального генома, послужили причиной возникновения стрессоустойчивого фенотипа насекомого-хозяина.



Влияние гриба *Rhizophagus irregularis* на транскриптом *Medicago lupulina*: механизмы симбиотической эффективности арбускулярной микоризы

А.П. Юрков¹, А.А. Крюков¹, А.О. Горбунова¹, Т.Р. Кудряшова¹, А.И. Ковальчук¹, А.И. Горенкова²,
М.Ф. Шишова²

¹ ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии

² Санкт-Петербургский государственный университет

ap.yurkov@arriam.ru

Настоящее исследование посвящено анализу механизмов симбиотической эффективности взаимодействия партнеров в модельной надорганизменной системе “*Medicago lupulina* + *Rhizophagus irregularis*”. Растения линии MIS-1 *M. lupulina* характеризовались высокой симбиотической эффективностью и параметрами микоризации при инокуляции штаммом RCAM00320 гриба арбускулярной микоризы (АМ) *R. irregularis*. Секвенирование выполнено на платформе Illumina HiSeqXTen с применением метода массового анализа концов кДНК (MACE-Seq) и с определением ортологов у *M. truncatula*. Анализ влияния инокуляции на транскриптомный профиль корней *M. lupulina* показал, что существенной экспрессией при микоризации обладали гены семейства аквапоринов (ортологи *MtrunA17chr7g0264961* и *MtrunA17chr2g0326621*). Общее число генов в корнях *M. lupulina* с дифференциальной экспрессией при микоризации против варианта без инокуляции АМ-грибом (при $\text{padj} < 0,01$) составило 1126 генов. Анализ групп GO (Gene Ontology) с использованием теста Колмогорова-Смирнова позволил выявить 81 группу генной онтологии. Наиболее представленными группами GO с группировкой по биологическим процессам с пониженной регуляцией являются группы GO:0010623 и GO:0009626, а с повышенной регуляцией — группы GO:0051262 и GO:0055062.

Выявлены значительные изменения в экспрессии 4863 ($\text{padj} < 0,01$) генов в листьях *M. lupulina* при инокуляции грибом из 34049 функционально аннотированных генов. Проведен анализ обогащения GO, идентифицировано 244 функциональных группы GO, включая гены, способствующие развитию эффективного симбиоза АМ. Все дифференциально экспрессирующиеся гены в группе GO:0016036 были понижены, поскольку растения АМ обладали более высокой устойчивостью к фосфатному голоданию. Впервые была показана повышенная регуляция генов, кодирующих тиоредоксин в листьях растений АМ. Предположительно тиоредоксин принимает участие в механизмах снижения уровня активных форм кислорода, что приводит к усилению антиоксидантной защиты растений *M. lupulina* в условиях низкого уровня доступного фосфора в субстрате.

Работы выполнены при поддержке гранта РФФ 22-16-00064. Исследование проводилось с использованием оборудования Ресурсного центра “Геномные технологии, протеомика и клеточная биология” во ВНИИСХМ.



Влияние растительных субстратов и целлюлозолитической ассоциации на таксономическое разнообразие микробиома чернозема южного

А.И. Якубовская¹, И.А. Каменева¹, А.Ю. Еговцева¹, С.Ф. Абдурашитов¹,
М.В. Гритчин¹, И.И. Смирнова¹

¹ ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма», Симферополь

alla_yakubovskaya89@mail.ru

Внесение органики в виде сидератов или пожнивных остатков способствует повышению плодородия почвы. Их разложение происходит в результате жизнедеятельности микробиоты, биоразнообразие которой позволяют изучить современные молекулярно-генетические методы.

Целью исследования было изучить изменения в таксономической структуре микробиома чернозема южного в условиях применения разных растительных субстратов и целлюлозолитической ассоциации (ЦА).

Опыты проводили в 2018 и 2019 годах на участках ФГБУН «НИИСХ Крыма» на черноземе южном слабогумусированном с заделкой растительной массы сидерата фацелии, соломы и стерневых остатков пшеницы. Схема опыта включала варианты с внесением растительной массы, обработанной ЦА, и без обработки. Контроль — черный пар с традиционной технологией его содержания. Целлюлозолитическую ассоциацию культивировали в жидкой питательной среде Гетчинсона-Клейптона с измельченной соломой пшеницы и наносили на фитомассу из расчета 1 л на гектар. Структуру микробиома изучали в слое 0–5 см через 30 дней от начала эксперимента. Для определения таксономической структуры почвенного микробиома использовали NGS библиотек гена 16S рРНК. Секвенирование проводилось с помощью MiSeq (Illumina) на базе ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ. Таксономический и статистический анализ полученных результатов проведен с использованием пакетов программ Bioconda, QIIME, PAST Paleo и баз данных.

Таксономический анализ на уровне родов показал существенные изменения в микробиоме чернозема южного под влиянием как органического субстрата, так и внесения ЦА. Количество флотипов увеличивалось с 1750 до 2048 в результате обработки ЦА растительных остатков пшеницы. Применение соломы совместно с биопрепаратами способствовало повышению индекса α -разнообразия Шеннона на 0,32 единиц относительно контроля. Анализ главных компонент, представляющий трехмерную проекцию данных из матрицы попарных расстояний между микробиомами почвенных образцов, также показал, что органический субстрат оказывал существенное влияние на изменения в микробном сообществе. При этом наблюдали строгую дифференцировку β -разнообразия микробиомов в различные части системы главных координат как при заделке соломы и фацелии, так и при их предварительной обработке ЦА.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об изменениях в таксономической структуре микробиома чернозема южного под влиянием исследуемых растительных субстратов и целлюлозолитической ассоциации. Увеличение биоразнообразия микробиоты в почве является положительным фактором для экологического равновесия микробиоценоза в агропочвах.

Симпозиум 13: Направленное изменение генетической информации
Symposium 13: Directed Change of Genetic Information



Создание генетически модифицированных животных-продуцентов фармакологических субстанций, моделей нейро-мышечных, инфекционных заболеваний и персонализированные подходы для доклинических исследований

А.В. Дейкин¹

¹ НИУ «БелГУ», Белгород

alexei@deikin.ru

Развитие генетических технологий открыло новую эру в биомедицинском использовании животных как для проведения фундаментальных исследований и патологических процессов, так и для исследования эффективности и безопасности высокотехнологических лекарственных средств и экономически эффективного получения биологически активных белков человека. В докладе представлены результаты цикла работ по созданию животных продуцентов лактоферрина, проурокиназы, белка теплового шока для фармакологических целей, определению уровня продукции рекомбинантного белка и его функциональности. Также обсуждаются результаты доклинических исследований новых терапевтических подходов, в том числе генной терапии на созданных животных-моделях заболеваний человека: боковой амиотрофический склероз, хроническое воспаление, синдром Леши-Нихана, GNAO1-ассоциированная эпилепсия, бесплодие, дистрофия Дюшенна, митохондриальная дисфункция, иммунодефицит, болезнь Паркинсона, нарушение интеллектуального развития с гипотонией и отклонениями в поведении, атеросклероз, эпилепсия очаговая с нарушением речи, новая коронавирусная инфекция. В докладе представлены результаты реализации исследовательской программы в рамках ФНТП развития генетических технологий, в частности исследования эффективности и безопасности двух генотерапевтических лекарственных средств для терапии дистрофии Миоши.



Изменение времени колошения мягкой пшеницы с помощью геномного редактирования — роль сайтов связывания транскрипционных факторов СНЕ в промоторной области генов *PPD-1*

А.А. Киселёва¹, Е.М. Тимонова¹, А.А. Бережная¹, А.Э. Коложвари¹, В.Н. Кельбин¹, А.В. Кочетов¹,
Е.А. Салина¹

¹ ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН»

antkiseleva@bionet.nsc.ru

Повышение продуктивности и адаптированности к условиям окружающей среды сельскохозяйственных растений часто зависит от времени колошения. Для создания линий мягкой пшеницы с ускоренным колошением и изучения регуляции данного признака, мы выбрали гены *PPD-1*, определяющие чувствительность растения к фотопериоду. Известно, что протяженные делеции в промоторной области этих генов приводят к нарушению их экспрессии и раннему колошению.

С использованием методов геномного редактирования CRISPR/Cas9 была получена коллекция растений с мутациями в промоторной области этих генов. Выявленные мутации представлены нуклеотидными заменами, делециями и инсерциями различной протяженности (от нескольких до сотен пар нуклеотидов) в области расположения вероятных сайтов связывания транскрипционных факторов, которые могут влиять на экспрессию гена. В условиях короткого светового дня была оценена экспрессия генов *PPD-1* у 15 линий с различными мутациями. Анализ показал, что делеции различной протяженности, захватывающие сайты связывания репрессора транскрипции СНЕ, приводят к изменению паттерна экспрессии этих генов, что подтверждает нашу гипотезу о влиянии этих цис-элементов на экспрессию генов *PPD-1* пшеницы. При этом растения с различными мутациями демонстрировали разные паттерны экспрессии, что может говорить о роли других транскрипционных факторов в регуляции этого гена. На растениях Т1 с различными мутациями проведена оценка фенотипа и выявлены линии с ускоренным колошением.

Данная работа выполнена при поддержке Курчатовского геномного центра ИЦиГ СО РАН (№ 075-15-2019-1662).



CRISPR-Cas9 редактирование растений сем. Solanaceae: ожидаемые и неожиданные эффекты

Е.З. Кочиева¹

¹ ФИЦ Биотехнологии РАН
ekochieva@yandex.ru

Для редактирования растений сем. Solanaceae (картофель, табак) были выбраны два гена: ген пластидной крахмалфосфорилазы *Pho1a*, вовлеченный в метаболизм крахмала, и ключевой ген биосинтеза каротиноидов, кодирующий фитоиндесатуразу *PDS*.

В результате редактирования гена крахмалфосфорилазы *StPho1a* были получены растения картофеля *Solanum tuberosum* четырех сортов с внесенной с помощью CRISPR-Cas9 мутации G261V в функциональный домен белка *Pho1a*, которая привела к изменению содержания крахмала и сахаров (сахароза, глюкоза, фруктоза), а также экспрессии генов метаболизма крахмала, в корнях и листьях, в том числе в ответ на воздействие холодового стресса. Также были получены растения табака *Nicotiana tabacum* с неполным мозаичным нокаутом гена *NtPho1a* (*NtPho1-L1*) за счет нескольких одновременных вариантов делеций с последующим сдвигом рамки считывания. Были выявлены изменения уровней экспрессии *NtPho1a*, других генов метаболизма крахмала.

Помимо ожидаемых изменений в углеводном обмене и его регуляции, у отредактированных растений картофеля наблюдались отклонения в морфологии корней и надземной части, а у линий табака с неполным нокаутом гена — в ростовых характеристиках и окраске фотосинтезирующей ткани. Изменения сопровождалась дифференциальной экспрессией генов биосинтеза каротиноидов, а также генов MADS-доменных транскрипционных факторов. Полученные результаты говорят о значимости изофермента *Pho1a* в метаболизме крахмала и развитии растения, включая фотосинтез и стрессовый ответ, а также допускают возможность непрямого участия *Pho1a* в регуляции стресс-чувствительных MADS-box генов.

В результате редактирования гена фитоиндесатуразы *PDS* *N. tabacum* были получены растения с мозаичным нокаутом, что привело к снижению содержания каротиноидов, а также вызвало изменения в содержании хлорофиллов и углеводов. При этом отредактированные растения характеризовались изменением времени инициации цветения и морфологических характеристик. Позднее цветение сопровождалось существенным подъемом уровня транскриптов гена фитоинсинтазы *NtPSY2* и нижестоящих структурных генов каротиногенеза.

Работа была выполнена при поддержке гранта НЦМУ «Агротехнологии будущего» № 075-15-2022–318 от 20.04.2022



Создание генетически отредактированных растений *Triticum aestivum* L. с нокаутом генов *MLO*, *Lpx1*, *Cer9*, *CKX1* и *rht-1*

Б.Р. Кулуев¹, Е.В. Михайлова¹, А.А. Галимова¹, И.Ф. Рахматуллина¹, Х.Г. Мусин¹,
Э.А. Баймухаметова¹, А.Р. Кулуев¹, Е.А. Заикина¹, З.А. Ибрагимова¹

¹ Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН

kuluev@bk.ru

Многообразие экологических условий возделывания зерновых культур, и в частности мягкой пшеницы, непредсказуемость аномальных погодных явлений, давление со стороны биотических стрессоров, антропогенных факторов и пестицидной нагрузки требует богатого разнообразия генофонда возделываемых в производстве сортов, в связи с чем приобретает актуальность ускорение темпов селекции, в том числе с использованием методов генетического редактирования CRISPR/Cas. Болезнь мучнистая роса, вызываемая *Blumeria graminis*, приводит к значительным потерям урожая пшеницы, а нокаут гена *MLO* может способствовать развитию устойчивости к этой болезни. Ген липоксигеназы *Lpx1* привлекает внимание исследователей как потенциальный объект для редактирования генов в отношении устойчивости к фузариозу. В последние десятилетия одним из важнейших угроз для сохранения и увеличения урожая культурных растений становится глобальное потепление, которое приводит ко все более жарким и сухим условиям во многих частях мира. Мутация гена *Cer9*, кодирующего убиквитин-лигазу E3, вызывает повышенное количество мономеров кутина и свободных жирных кислот с очень длинной цепью в кутикулярном воске, что может способствовать повышению толщины кутикулярной мембраны и засухоустойчивости. Широко известно, что перед переходом к стадии старения в растениях включаются ферменты-деструкторы цитокининов — цитокининоксидазы. Предполагается, что при блокировании экспрессии ферментов цитокининоксидаз (СКХ), концентрация цитокининов будет сохраняться на более высоком уровне, и растения не будут слишком рано переходить на стадию старения. Исходя из вышесказанного, целью нашего исследования является нокаут генов *MLO*, *Lpx1*, *Cer9* и *TaCKX1* мягкой пшеницы. Для каждого целевого гена, при помощи программы Cyspor, были подобраны по 3–5 вариантов гидовых РНК. В качестве основы генно-инженерной конструкции служил вектор рTrans 230, а также модули рMODA 0503 и рMODC3003. Для агробактериальной трансформации использовали сорта яровой мягкой пшеницы «Сигма» и

«Тая». С использованием целевых конструкций проведена агробактериальная трансформация незрелых зародышей, проведены работы по регенерации, акклиматизации и ПЦР-анализу полученных генетически отредактированных растений мягкой пшеницы. Ведутся работы по получению и изучению соответствующих линий генетически отредактированных растений *T. aestivum*.

Исследование поддержано грантом Минобрнауки РФ (соглашение № 075-15-2021-1066 от 28 сентября 2021 г.).



Природные ГМО: новые факты и обобщения

Т.В. Матвеева¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет

radishlet@gmail.com

Природно-трансгенные растения (или природные ГМО, пГМО) — это растения, которые были трансформированы агробактериями в ходе их эволюции. Будучи трансформированными, они получили преимущество перед нетрансгенными родственниками, сохранили Т-ДНК (называемую клеточной, клТ-ДНК) в своих геномах и передают ее из поколения в поколение до наших дней.

Благодаря работам нашей группы, список пГМО был существенно расширен, он включает несколько десятков родов двудольных растений и более сотни видов. По нашим оценкам около 7 процентов видов двудольных растений несут в своих геномах следы агробактериальных инфекций [1]. Т-ДНК ныне известных пГМО различаются по протяженности, составу генов и количеству интактных последовательностей среди них. Исходя из этого, можно предположить отсутствие единой функции клТ-ДНК у растений [2].

Анализ экспрессии интактных трансгенов у различных природно-трансгенных видов табака, льнянок, арахиса показывает, что она тканеспецифична. У всех исследованных видов уровень экспрессии трансгенов выше в корнях, чем в побегах [3].

Среди интактных экспрессирующихся природных трансгенов преобладают гены синтеза опинов, для изучения продуктов которых нами разработан подход, направленный на сверхэкспрессию в гетерологичной системе с целью получения препаративных количеств вещества для описания его химической структуры и биологической активности. Данный подход был применен при исследовании агроцинопина, синтезируемого *Nicotiana noctiflora*, кукумопина *Arachis hypogaea* и *Silene vulgaris* [3]. Продемонстрирована рост-стимулирующая активность опинов в отношении отдельных аскомицетов.

- [1] Matveeva, T. V.; Otten, L. Widespread occurrence of natural transformation of plants by *Agrobacterium* // Plant Mol. Biol. 2019,101, 415–437.
- [2] Matveeva, T. V. Why do plants need agrobacterial genes? // Ecol. Genet. 2021, 19, 365–375.
- [3] Khafizova, G. V.; Sierro, N.; Ivanov, N. V.; Sokornova, S. V.; Polev, D. E.; Matveeva, T. V. *Nicotiana noctiflora* Hook. Genome Contains Two Cellular T-DNAs with Functional Genes // Plants 2023, 12, 3787.
- [4] Матвеева Т. В., Богомаз О. Д., Голованова Л. А., и др. Гомологи гена *rolC* природно-трансгенных льнянок *Linaria vulgaris* и *Linaria cretica* экспрессируются *in vitro* // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018. Т. 22, № 2. С. 273–278

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-15-2022–322 от 22.04.2022 о предоставлении гранта в виде субсидии из Федерального бюджета Российской Федерации для создания и развития НЦМУ «Агротехнологии будущего».



CRISPR/Cas9-редактирование гена *GEX2* в протопластах кукурузы с использованием рибонуклеопротеидных комплексов

Е. М. Моисеева¹, В. В. Фадеев¹, Ю. В. Фадеева¹, М. И. Чумаков¹

¹ Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов – обособленное структурное подразделение
Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра
“Саратовский научный центр Российской академии наук” (ИБФРМ РАН)

em-moiseeva@mail.ru

Белок *GEX2* экспрессируется в мембранах гамет кукурузы и необходим при оплодотворении на этапе контакта мембран гамет. Нокаутирование гена *GEX2* предположительно может привести к изменению эффективности оплодотворения и, как следствие, образованию матроклинных гаплоидных зародышей кукурузы. Целью исследования является анализ эффективности CRISPR/Cas9-редактирования гена *GEX2* после ПЭГ-опосредованной трансфекции протопластов кукурузы рибонуклеопротеидными (РНП) комплексами с разными гидРНК. ГидРНК синтезировали в двух вариантах — двухкомпонентной и единой. Двухкомпонентная гидРНК 1, состоящая из CRISPR РНК и транскрипционной РНК, была синтезирована в виде РНК-олигонуклеотидов. ГидРНК 2 была получена в виде единой направляющей РНК с использованием T7-транскрипции *in vitro*. Нам не удалось зафиксировать редактирование гена *GEX2* в экспериментах с комплексами Cas9/гидРНК 1. В экспериментах с комплексами Cas9/гидРНК 2 эффективное редактирование было достигнуто только при использовании количества нуклеазы Cas9 и гидРНК в РНП-комплексе 45/15 мкг, но не 22,5/7,5 мкг. В двух независимых экспериментах эффективность редактирования гена *GEX2* составила 6,5 и 10,7% при использовании 1×10^5 и 6×10^5 протопластов, соответственно. Таким образом, можно количественно оценивать эффективность трансформации протопластов кукурузы РНП-комплексами с разными гидРНК, и ПЭГ-опосредованная трансфекция протопластов кукурузы может быть использована в качестве тест-системы для определения эффективности CRISPR/Cas9-редактирования генома кукурузы.

Работа поддержана грантом РФФИ № 23-26-00101.



Использование генов-регуляторов регенерации в биотехнологии и генной инженерии растений

В.Е. Творогова¹, А.М. Артемюк¹, А.В. Брынчикова², Т.В. Дюбенко³, З.С. Константинов², Д.Б. Павлова¹,
Э.А. Поценковская², В.Ю. Симонова², К.В. Смирнов¹, Д.В. Яковлева¹, Л.А. Лутова¹

¹ Санкт-Петербургский Государственный Университет

² Научно-технологический университет «Сириус»

³ Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР)

krubaza@mail.ru

Регенерация *in vitro* (включая побегообразование и соматический эмбриогенез) часто является наиболее сложным этапом получения трансгенных или редактированных растений. Стандартные методики трансформации растений, такие как агробактериальная трансформация или биобаллистика, подразумевают внедрение чужеродной ДНК в отдельные клетки эксплантов и дальнейшее развитие каллусов и/или регенерантов из этих клеток на селективной среде. Растения обладают выдающейся способностью к регенерации по сравнению с другими организмами, однако далеко не все их виды и сорта способны формировать новый организм из единичных соматических клеток в таких условиях.

Регенерация в культуре *in vitro* — это искусственно индуцируемый процесс, который не происходит в естественных условиях. Развитие регенерантов в очень большой степени зависит от конкретных внешних условий (например, содержания тех или иных веществ в среде), а также от генотипа растения. В генетической регуляции регенерации задействованы транскрипционные факторы, участвующие в контроле пролиферации и дифференцировки клеток, в развитии эмбрионов или новых побегов. Эктопическая экспрессия некоторых генов, кодирующих такие транскрипционные факторы, может быть достаточной для индукции побегообразования или соматического эмбриогенеза у видов и сортов растений, исходно неспособных к таким процессам. Такие гены могут быть включены в векторы для трансформации растений для того, чтобы трансформированные клетки получили преимущество перед нетрансгенными и более успешно формировали растения-регенеранты.

В ходе наших исследований, используя транскриптомный анализ и методы генной инженерии, мы обнаружили несколько генов, которые могут выполнять роль морфогенетических регуляторов у модельного бобового растения — *Medicago truncatula*. В отличие от *M. truncatula*, у которой были получены легкотрансформируемые линии с высокой способностью к регенерации, для многих бобовых растений, включая сельскохозяйственно важные культуры, побегообразование и соматический эмбриогенез из трансформированных клеток затруднены. В настоящее время мы оцениваем способность индукторов соматического эмбриогенеза, обнаруженных у *M. truncatula*, индуцировать регенерацию у таких видов бобовых, как горох и чечевица.

Работа поддержана грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках соглашения № 075-15-2022–322 от 22.04.2022 на создание и развитие Научного центра мирового уровня “Агротехнологии будущего” (СПбГУ ID116276633).



Эффективный способ трансформации ячменя с применением генов *GRF4-GIF1*, кодирующих регуляторы развития, для работ по редактированию генома возделываемых сортов

Е.М. Тимонова¹, А.А. Киселева¹, А.А. Бережная¹, М.А. Нестеров¹, А.М. Короткова¹, В.Н. Кельбин¹,
А.В. Кочетов¹, Е.А. Салина¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»

eegorova@bionet.nsc.ru

Использование технологий модификации генома с помощью системы CRISPR/Cas в селекции ячменя ограничено тем, что хозяйственно-ценные генотипы в разной степени подвержены генетической трансформации и различаются по способности к регенерации *in vitro*. Поэтому большинство существующих протоколов трансформации ячменя оптимизированы для работы с модельным сортом Golden Promise. Целью данной работы было создание протокола для эффективной трансформации ячменя, независимого от его генотипа. Такой протокол может применяться для работ по редактированию генов с целью улучшения признаков непосредственно у возделываемых сортов ячменя.

В настоящее время доказано, что гены, регулирующие рост и развитие растений, могут использоваться для повышения способности к регенерации и частоты трансформации растений. Так, например, за счет экспрессии генов пшеницы *GRF4-GIF1* была значительно повышена эффективность получения трансгенных растений из нескольких генотипов мягкой и твердой пшеницы.

В нашей работе мы использовали химерную конструкцию *GRF4-GIF1* в составе бинарного вектора JD633 для повышения частоты регенерации, оптимизировали параметры биобаллистической доставки вектора в экспланты и этапы культуры ткани *in vitro*. Для проведения модификации генома у сортов Целинный 5, Алей и Г-23035 был выбран ген *Nud*, который контролирует признак голозерности или пленчатости зерна. В результате из суммарно 365 незрелых зародышей получено 27 растений T₀, у 14 из которых обнаружена встройка ДНК вектора и целевые мутации. Кроме того, у части растений T₀, которые не содержат встройку ДНК вектора, также выявлены мутации в последовательности гена *Nud*.

Таким образом, используя усовершенствованный протокол трансформации, опосредованной биобаллистикой, мы получили голозерные растения трёх возделываемых сортов ячменя Целинный 5, Алей и Г-23035 с мутациями в гене *Nud*. Описываемый протокол может быть использован для редактирования и трансформации других сортов.

Работа была поддержана Курчатовским Геномным Центром ИЦиГ СО РАН (соглашение № 075-15-2019-1662).



«Золотой стандарт» сотрудничества по геномному редактированию сельскохозяйственных растений — основные условия и примеры реализации

Е.К. Хлесткина¹

¹ ВИР, Санкт-Петербург

khlest@yahoo.com

Систематический обзор мировых достижений в области редактирования сельскохозяйственных растений доказывает, что этот подход уже успешно внедрен в селекционные программы как один из вспомогательных методов. За первые 10 лет с момента появления самой доступной и простой в использовании технологии редактирования — системы CRISPR/Cas в мире за это время в работах на культурных растениях, нацеленных на улучшение тех или иных свойств сортов и гибридов, были улучшены около 30 культур по почти 300 генам. Развитие направления по редактированию дало колоссальный стимул для развития работ в области частной молекулярной генетики и геномной инженерии сельскохозяйственных растений. Стало очевидным, что условием приоритетного поиска и редактирования новых генов-мишеней является доступ к уникальным генетическим ресурсам культурных растений. Второе условие для достижения реальных практических успехов: кооперация специалистов, так называемый «золотой стандарт» сотрудничества по геномному редактированию сельскохозяйственных растений. Третье — возможность реализовать полученные достижения на практике при наличии соответствующих законодательных норм. В докладе описываются результаты работ, направленных на реализацию «золотого стандарта» сотрудничества по геномному редактированию сельскохозяйственных растений с целью получения востребованных для селекции перспективных линий с улучшенными свойствами, в том числе из опыта ВИР в рамках проекта РНФ № 21-66-00012.



Использование системы CRISPR/Cas9 для получения гуманизированных животных

М.В. Шепелев¹

¹ Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины, Институт биологии гена
Российской академии наук
mshepelev@mail.ru

Гуманизированные животные представляют собой важный инструмент для биомедицины и биотехнологий и несут гены, фрагменты генома или клетки человека. Продукция рекомбинантных терапевтических белков крови человека в молоко трансгенных животных представляет собой альтернативу традиционным методам получения таких белков в культурах клеток млекопитающих. В нашей работе на модели генов мыши *Serpinc1* и *Serping1*, кодирующих белки крови антитромбин III (АТIII) и ингибитор С1-эстеразы (С1-ИНГ), разрабатываются подходы с использованием системы CRISPR/Cas9 к получению гуманизированных животных-продуцентов рекомбинантных АТIII и С1-ИНГ человека в молоко. Нами предложены и экспериментально валидируются две стратегии гуманизации. В первом случае, с помощью CRISPR/Cas9-опосредованного нокина гена человека, в локус гомологичного гена мыши инактивируется ген мыши, а ген человека экспрессируется под контролем регуляторных элементов гена мыши для компенсации его функции. Во втором случае получают линию с CRISPR/Cas9-опосредованный нокаутом гена животного, а для компенсации его функции получают линию животных со случайной встройкой гена человека. Далее, путем скрещивания получают линию гуманизированных животных, несущих миниген человека на генетическом фоне нокаута гена животного. Кроме этого, нами предложен подход к получению продуцентов белков в молоко, основанный на CRISPR/Cas9-опосредованном нокине конструкции для экспрессии рекомбинантного белка в локус гена *Csn2* мыши, кодирующего белок молока β -казеин. В этом случае рекомбинантный белок продуцируется в молоко под контролем регуляторных элементов гена β -казеина мыши. В итоге, скрещивая животных-продуцентов рекомбинантных АТIII или С1-ИНГ в молоко, с линиями животных, гуманизированных по соответствующему гену, получают гуманизированных животных-продуцентов белков в молоко. К настоящему моменту для валидации предложенных стратегий были получены линии мышей с нокаутом генов *Serpinc1* и *Serping1* и линия мышей со случайной встройкой минигена АТIII человека. Для продукции белка АТIII в молоко осуществлен CRISPR/Cas9-опосредованный нокин минигена АТIII человека в локус *Csn2* и показана эффективная продукция АТIII в молоко. Разрабатываемые стратегии гуманизации с помощью технологии CRISPR/Cas9 являются универсальными и могут найти применение не только при получении животных-продуцентов белков в молоко, но и при создании животных моделей заболеваний человека и моделей для доклинических исследований.

Симпозиум 14: Дифференцировка и стволовые клетки
Symposium 14: Stem Cells and Differentiation



Моделирование рестриктивной кардиомиопатии с использованием ИПСК человека

Д.В. Голиусова¹, М.Ю. Шарикова¹, К.А. Лаврентьева¹, Е.В. Емец¹, О.С. Лебедева¹,
А.Н. Богомазова¹, М.А. Лагарькова¹

¹ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России

daria.goliusova@mail.ru

Рестриктивная кардиомиопатия (РКМП) — это орфанная патология миокарда, характеризующаяся ригидностью стенок желудочков и диастолической дисфункцией. РКМП обусловлена мутациями генов саркомерных и цитоскелетных белков, в частности гена *FLNC* [1]. У человека ген *FLNC* кодирует крупный актин-связывающий белок филамин С [2]. Миссенс-мутации и небольшие инделы *FLNC* могут изменять конформацию и интерактом филамина С, опосредуя нарушение протеостаза мышечных клеток. Однако молекулярные механизмы таких нарушений остаются неизвестными. Клеточное моделирование РКМП затруднено отсутствием явно выраженного морфологического фенотипа миокарда у пациентов и ограничено недостаточной зрелостью кардиомиоцитов, получаемых из ИПСК (ИПСК-КМ) *in vitro*. По своим характеристикам ИПСК-КМ больше соответствуют фетальным и могут не отражать молекулярный фенотип РКМП с постнатальной манифестацией [3]. Целью данной работы является создание релевантной клеточной модели РКМП на основе ИПСК пациента с гетерозиготной мутацией с. 7416–7418delGAA в гене *FLNC* и диагнозом РКМП. В задачи нашей работы входило геномное редактирование ИПСК для внесения или коррекции исследуемой мутации в клетки здорового донора или клетки пациента, соответственно, и разработка протокола созревания ИПСК-КМ *in vitro*. Полученные результаты будут представлены на Конгрессе.

- [1] Fürst, D. O., Goldfarb, L. G., Kley, R. A., Vorgerd, M., Olivé, M., and van der Ven, P. F. (2013) Filamin C-related myopathies: pathology and mechanisms, *Acta Neuropathol.*, 125, 33–46.
- [2] Song, S., Shi, A., Lian, H., Hu, S., and Nie, Y. (2022) Filamin C in cardiomyopathy: from physiological roles to DNA variants, *Heart Fail. Rev.*, 27, 1373–1385.
- [3] Bedada, F. B., Chan, S. S., Metzger, S. K., Zhang, L., Zhang, J., Garry, D. J., Kamp, T. J., Kyba, M., Metzger, J. M. (2014). Acquisition of a quantitative, stoichiometrically conserved ratiometric marker of maturation status in stem cell-derived cardiac myocytes, *Stem Cell Rep.* 3, 594–605.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 23-25-00456.



Ростовые свойства культур хондроцитов различного генеза

П.А. Голубинская¹, А.С. Пикина¹, Е.С. Ручко¹, А.В. Еремеев¹

¹ ФГБУ ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина ФМБА России

polinapigeon@gmail.com

Актуальность. Несмотря на то, что клеточные продукты на основе аутологичных хондроцитов для восстановления хрящевой ткани уже присутствуют на рынке, пока они больше направлены на коррекцию незначительных повреждений суставных хрящей и не покрывают всю потребность медицинского сообщества. Более того, часто при наличии объёмных повреждений хрящевой ткани и длительном воспалении невозможно получить в достаточном количестве хондроциты с сохранным пролиферативным потенциалом для создания полноценного импланта, а при наследственных патологиях вообще невозможно получить функциональный клеточный материал. Хондроциты, дифференцированные из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК), проявляют ювенильный фенотип, что выражается в высокой скорости пролиферации и усиленной выработке характерного для хряща внеклеточного матрикса, что может способствовать более эффективному заживлению суставных дефектов [1]. Таким образом, ИПСК представляют собой мощный и перспективный клеточный источник, позволяющий получить большое количество материала для трансплантаций [2]. Несмотря на множество преимуществ, клеточные технологии с использованием ИПСК имеют ряд нерешённых проблем, среди которых стандартизация протоколов получения и дифференцировки.

Материалы и методы. В данной работе были получены и проанализированы транскриптомные (RNA-seq) и протеомные (LC-MS) профили клеточных культур хондроцитов, выделенных из биоптатов хрящевой ткани здоровых доноров, пациентов с артритами, а также их 3D клеточных культур. Аналогичные профили были получены для 2D и 3D культур ИПСК и дифференцированных в хондрогенном направлении ИПСК. Скорость достижения монослоя указанных культур исследовалась на имиджере Juli Stage (NanoEntek, Корея).

Результаты и обсуждение. При сравнении хондроцитов, полученных от больных и здоровых пациентов, была выявлена дифференциальная экспрессия генов, ассоциированных с клеточным делением. Например, в топ 20 статистически значимо up-регулируемых генов в хондроцитах от больных доноров входили *CENPE*, *CDCA8*, *PRC1*, *BUB1B*, *KIF4A*. По протеомным данным дифференциально экспрессируемые белки выявлены не были. Up-регуляция генов, связанных с *PCNA* и участвующих в делении клеток, была также идентифицирована при сравнении хондробластов из клеток пациентов с гонартрозом с клетками условно здоровых доноров; 2D- и 3D-культур из ИПСК-производных с 2D- и 3D-культурами из клеток пациентов. Аналогичные паттерны наблюдали по результатам анализа протеомных данных. Оценка с помощью имиджинговой системы показала, что максимальная плотность быстрее всего достигается нативными ИПСК. Наименьшая скорость роста наблюдалась в культурах хондроцитов, полученных от больных пациентов.

Выводы. Дифференцированные в хондроцитарном направлении ИПСК-производные показывают сниженную пролиферативную активность, по сравнению с нативными ИПСК, и повышенную — по сравнению с хондроцитами от пациентов с патологиями суставного хряща.

- [1] Lietman S. A. Induced pluripotent stem cells in cartilage repair // World Journal of Orthopedics. 2016. V. 7. № 3. P. 149–155.
- [2] Wu C. L. et al. Single cell transcriptomic analysis of human pluripotent stem cell chondrogenesis // Nature communications. 2021. V. 12. № 1. P. 362.

Финансирование. Данная работа выполнена в рамках государственного задания «Хондробласт-2».



2D- и 3D-культуры эпителиальных клеток респираторного тракта из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациентов с муковисцидозом

А.Г. Демченко¹, Е.В. Кондратьева¹, М.В. Балясин², В.Ю. Табаков¹, Е.Л. Амелина³, А.В. Лавров¹,
С.А. Смирнихина¹

¹ Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова, Москва

² Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, Москва

³ ФГУ НИИ Пульмонологии ФМБА, Москва

demchenkoann@yandex.ru

Эксперименты с использованием пациент-специфичных клеточных культур представляют собой неотъемлемый этап как в диагностике заболеваний, так и в разработке лекарственных препаратов для их лечения. Однако часто некоторые типы клеток, такие как клетки легких, трудно получить путем биопсии. В настоящей работе в качестве культур клеток эпителия респираторного тракта рассматриваются базальные клетки (БК), бронхиальные и легочные органоиды (БО и ЛО, соответственно), полученные из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) пациентов с муковисцидозом (МВ).

Получение БК, БО и ЛО осуществляли путем дифференцировки ИПСК пациентов с МВ (гомозиготная мутация F508del в гене *CFTR*) и здоровых доноров по ранее отработанным протоколам с некоторыми модификациями [1, 2]. Характеристику клеточного состава БК, БО и ЛО проводили методом иммунофлуоресцентного окрашивания с последующим анализом методами проточной цитофлуориметрии и флуоресцентной микроскопии. Функциональная активность *CFTR*-канала в БО и ЛО оценивалась методом форсколин-индуцированного набухания (FIS — Forskolin-induced Swelling) органоидов. Статистическую обработку данных проводили в программе GraphPad Prism.

Получены БО от двух пациентов с МВ и одного здорового донора, ЛО от шести пациентов с МВ и трех здоровых доноров, БК от четырех пациентов с МВ и трех здоровых доноров. БО и ЛО экспрессируют маркеры базальных (TP63, CK5), бокаловидных (MUC5AC) и крупных секреторных клеток (SCGB3A2), ЛО также экспрессируют маркеры альвеолоцитов 1 (AQP1) и 2 (SFTPB) типа. БК экспрессируют маркеры базальных клеток (TP63, CK5, TTF-1). В ходе FIS БО и ЛО из ИПСК здорового донора демонстрировали набухание на 24 ч в среднем в 2,5 раза ($p < 0,0001$) и 5,6 раз ($p < 0,0001$) относительно исходного значения, соответственно. БО и ЛО из ИПСК доноров с муковисцидозом набухали на 24 ч в среднем в 1,1 раз ($p = 0,598$) и 1,08 раз ($p = 0,685$) относительного 0 ч, соответственно. При FIS ЛО полученных из БК здорового донора, набухали на 24 ч в среднем в 1,8 раз ($p < 0,0001$), а из БК пациентов с МВ на 24 ч не набухали в ответ на инкубацию с форсколином ($p > 0,05$).

Результаты работы демонстрируют возможность получения мультипотентных базальных клеток респираторного тракта, бронхиальных и легочных органоидов из ИПСК, а также позволяют использовать FIS на БО и ЛО для оценки проводимости *CFTR*-канала.

[1] Hawkins F. J. et al. Derivation of airway basal stem cells from human pluripotent stem cells // Cell Stem Cell. — 2021. — Т. 28. — № 1. — С. 79–95. e8.

[2] Demchenko A. et al. Airway and Lung Organoids from Human-induced Pluripotent Stem Cells Can Be Used to Assess CFTR Conductance // International Journal of Molecular Sciences. — 2023. — Т. 24. — № 7. — С. 6293.



Современные клеточные модели старения человека

А.И. Калмыкова¹, В.К. Абдыев¹, А.Л. Кунгурцева², А.В. Витебская²

¹ *Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова, Российская академия наук, Москва*

² *Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, Москва*

allakalm@idbras.ru

Лучшей моделью старения человека считаются клетки, полученные от пациентов с синдромами преждевременного старения. Репрограммирование и обновление прогероидных клеток, т.е. получение индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК), с последующей дифференцировкой в различных направлениях, позволяет в условиях лабораторного эксперимента проследить начало, развитие и ускорение процесса старения. Более того, как клеточные, так и организменные модели старения указывают на то, что проявление признаков старения запускается в стволовых клетках, и терапевтические воздействия должны быть направлены на обновление потенциала именно стволовых клеток. Такая модель активно исследуется в мире, однако отсутствует у нас в стране. Необходимость ее создания подтверждается возросшим интересом к биологии старения в России и во всем мире. Наш коллектив создает и исследует клеточные модели, полученные на основе клеток пациентов с прогероидными синдромами. Были получены иПСК из фибробластов пациентов с прогерией Хатчинсон-Гилфорда, вызванной мутацией ламина А/С и неонатальным прогероидным синдромом Видемана-Раутенштрауха, вызванным мутацией гена POLR3A, кодирующего субъединицу РНК полимеразы III. Модель иПСК из клеток пациентов с прогерией Хатчинсон-Гилфорда является наиболее изученной и активно исследуется в мире. Синдром Видемана-Раутенштрауха является очень редким заболеванием с наиболее ранним проявлением признаков старения. иПСК от пациента с синдромом Видемана-Раутенштрауха получены впервые в мире. Одним из наиболее ярких признаков старения является дисфункция теломер, которая может являться одним из первых, если не начальным, сигналом, запускающим клеточную гибель при старении. Детальное исследование признаков дисфункции теломер на модели иПСК, полученных от пациентов с синдромами преждевременного старения, позволит выявить появление сигнала теломерной дисфункции и его связь с развитием прогероидного фенотипа клеток, что важно для выявления молекулярных мишеней воздействия при разработке терапевтических подходов для замедления старения.



Нейрональные гены *PRKN* и *ANKK1B* расположены в ломких сайтах хромосом в индуцированных плюрипотентных стволовых клетках человека

А.В. Кислова¹, Д.Г. Жегло¹, В.О. Пожитнова¹, Ф.С. Свиридов¹, Е.С. Воронина¹

¹ ФГБНУ «МГНЦ»

anastasiakislovav@gmail.com

Индукцированные плюрипотентные стволовые клетки (иПСК) и продукты их дифференцировки широко применяются для изучения генетических заболеваний и в регенеративной медицине. При этом для иПСК характерен повышенный стресс репликации. Наиболее уязвимые к нему участки генома называют конститутивными ломкими сайтами (кЛС). Они тканеспецифичны, но в настоящее время не картированы в иПСК. Ломкость хромосом, вызванная стрессом репликации, может вносить вклад в возникновение аномалий кариотипа иПСК, повышая риск онкотрансформации, нарушения способности к дифференцировке или сказываться на функциональной состоятельности клеточных продуктов. Целью работы стал поиск условий индукции и картирование кЛС в иПСК.

Для картирования ломких сайтов в дифференцированных клетках моделируют стресс репликации обработкой афидиколином (ингибитором репликативных полимераз). В нашей работе клетки нетипично ответили на обработку афидиколином, что было вызвано, вероятно, особенностями регуляции клеточного цикла в иПСК. Для оценки динамики вступления клеток в митоз в условиях стресса репликации мы вводили 5-этинил-2'-дезоксинуридин (EdU), маркер репликации ДНК, одновременно с афидиколином и /или кофеином (ингибирующим комплексы ATR и ATM и ослабляющим G2/M чекпоинт). Была установлена задержка клеточного цикла под афидиколином, превышающая 48 часов, но преодолеваемая при совместной обработке афидиколином и кофеином.

Точная оценка изменения динамики клеточного цикла позволила перейти к картированию кЛС. Используя дифференциальное окрашивание хромосом и последующую локус-специфичную флуоресцентную гибридизацию *in situ* с несерийными зондами, мы картировали кЛС *FRA12L* и *FRA6E* на молекулярном уровне в больших нейрональных генах *ANKK1B* и *PRKN*. Эта находка указывает на вклад стресса репликации в возникновение рекуррентной трисомии хромосомы 12 и aberrаций хромосомы 6. Также повреждения в генах могут сказаться на функциональной состоятельности полученных из иПСК дифференцированных продуктов нейронального происхождения. В нашем исследовании впервые индуцированы кЛС в иПСК и выявлена потенциальная соматическая нестабильность клинически значимых генов в периоде раннего эмбриогенеза и при культивировании клеток *in vitro*.



Увеличение количества теломерной ДНК в клетках костного мозга, обработанных фрагментированной депротенизированной ДНК человека (hDNAgr)

С.Г. Ошихмина¹, В.С. Рузанова¹

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

s.oshikhmina@g.nsu.ru

В работах лаборатории индуцированных клеточных процессов ИЦиГ СО РАН было показано, что экстраклеточные фрагменты дцДНК при попадании в гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) стимулируют образование колоний и дифференцировку ГСК у человека, мыши и крысы. Эти процессы сопровождаются появлением пангеномных одноцепочечных (ОЦ) разрывов. Появление ОЦ разрывов инициирует рекомбиогенную ситуацию (РС) в ГСК, в рамках которой активируются репарационно-рекомбинационные процессы, необходимые для восстановления целостности хроматина и перехода клетки в коммитированное состояние. Было сделано предположение, что в момент активно текущей РС экстраклеточная генетическая информация, в форме доставленных в ГСК экстраклеточных фрагментов, может быть интегрирована в хромосомный континуум.

Предполагалось, что экспериментально просто можно будет детектировать изменения в реципиентном хроматине в массе повторяющейся ДНК. Было предложено использовать в качестве оценочной мишени изменение количества теломерной ДНК, образованной идентичным для выбранных организмов теломерным гексануклеотидом.

ККМ обрабатывали hDNAgr, высаживали на метилцеллюлозу, производили подсчет колоний и оценивали относительное количество теломерной ДНК в сравнении с контрольными группами, с помощью дот-блот и саузерн-блот гибридизаций.

Показано, что количество теломерной ДНК в клетках колоний, обработанных hDNAgr, достоверно повышено во всех экспериментальных моделях. Различные параллельные контроли, характеризующие возможность активации экзо/эндо теломеразы, свидетельствовали, что такая активность не детектируется, а значит происходит АЛТ опосредованная или истинная интеграция в хромосомный континуум генетической информации, попавшей в ГСК в результате естественного биологического процесса интернализации экстраклеточных фрагментов ДНК.



Переход эмбриональных стволовых клеток мыши в праймированное плюрипотентное состояние сопряжен с активацией экспрессии иммунопротеасом

У.И. Поденкова¹, А.С. Цимоха¹, Е.И. Бахмет¹

¹ Институт Цитологии РАН, Санкт-Петербург

uliana.podenkova@gmail.com

Исследование молекулярных механизмов, контролирующих переход от наивных клеток к дифференцированным через промежуточные и праймированные состояния плюрипотентности, важно для нашего понимания раннего развития, а также для эффективного и безопасного внедрения плюрипотентных клеток в регенеративную медицину. Эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) обладают уникальной способностью к самообновлению и способны дифференцироваться в типы клеток, представляющие три эмбриональных зародышевых листка, поэтому можно предположить, что такие клеточные функции требуют быстрой модификации клеточного цикла, строгой регуляции транскрипции и контроля протеостаза для поддержания способности к пролиферации. Исследования убиквитин-протеасомной системы показали влияние этой системы на индукцию, поддержание и выход из плюрипотентности. Эта регуляторная функция осуществляется за счет посттрансляционных модификаций основных факторов плюрипотентности (Oct4, Nanog и c-Myc), регуляции ассоциированных с плюрипотентностью сигнальных путей, посредством убиквитинлигаз E3 и деубиквитиназ DUB.

Роль одной из альтернативных конфигураций протеасомы, иммунопротеасомы, изучалась в контексте тканеспецифических функций, но ее участие в поддержании плюрипотентности и в дифференцировке остается неизвестным. В данной работе анализ данных РНК секвенирования показал повышение уровня экспрессии генов, кодирующих субъединицы иммунопротеасом в эпибластоподобных клетках (ЭпиПК) мыши по сравнению с наивными ЭСК. С помощью вестерн блот анализа было показано увеличение уровня белков иммуносубъединиц в ЭпиПК мыши по сравнению с наивными ЭСК. Мы, однако, обнаружили, что ингибирование активности иммунопротеасом не оказывает критического влияния на жизнеспособность клеток; наивные ЭСК и ЭпиПК продолжали экспрессировать основные маркеры плюрипотентности. Таким образом, экспрессия иммунопротеасом в ЭпиПК мыши предполагает их специфическую роль на определенных этапах эмбрионального развития мыши, которую необходимо уточнить в дальнейших исследованиях.

Работа поддержана грантом РФФИ № 22-14-00390.



Гетерогенность ретинального пигментного эпителия глаза млекопитающих и человека. В поисках стволовой клетки

Л.А. Ржанова¹, Ю.В. Маркитантова², М.А. Александрова²

¹ *Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН*

² *Koltzov Institute of Developmental Biology of Russian Academy of Sciences*

9303923@gmail.com

Клетки ретинального пигментного эпителия (РПЭ) принципиально важны для развития и функционирования сетчатки глаза, и его нарушение активирует патологические процессы, зачастую приводящие к потере зрения. В связи с этим, изучение морфологических, молекулярных свойств клеток РПЭ, их регенераторных возможностей, приобретает особое значение для биомедицины. При внешнем морфологическом сходстве, РПЭ представлен популяциями гетерогенных клеток, молекулярно-генетические свойства, которых стали приоткрываться методами секвенирования РНК лишь в последние годы. РПЭ разделяют на макулярный и периферический, где условно выделяют 5 топографических зон, клетки которых отличаются друг от друга по морфометрическим параметрам. Методами секвенирования РНК было показано, что клетки РПЭ функционально гетерогенны в зависимости от своего топографического положения. Выделяют 9 субпопуляций клеток РПЭ, которые отличаются по профилям экспрессии генов, что может указывать на их узкую специализацию. Существует связь между усложнением функций клеток РПЭ и продолжительностью их дифференцировки в процессе онтогенетического развития. Функциональная гетерогенность заложена в генетической программе самих клеток, ее регуляторами являются эпигенетические процессы и факторы клеточного микроокружения. Клетки РПЭ демонстрируют разную восприимчивость к моногенным и полигенным заболеваниям сетчатки, в зависимости от своего расположения в слое и клеточного микроокружения. Среди субпопуляций РПЭ идентифицированы клетки, локализованные в макулярной области и на периферии монослоя и демонстрирующие свойства стволовых клеток (РПЭСК). Особое внимание уделяется изучению свойств «стволовости», пролиферации и пластичности РПЭСК, которые могут быть полезны для раскрытия механизмов дегенеративно-дистрофических заболеваний сетчатки глаза человека, связанных с патологиями РПЭ и поиском новых путей их терапии.



Экспериментальное подтверждение основных положений концепции природной реконструкции генома на модели гемопоэтических стволовых клеток

В.С. Рузанова¹, С.Г. Ошихмина²

¹ *Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Новосибирск*

² *Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Новосибирск; Новосибирский государственный университет, Новосибирск*

v.ruzanova.s@yandex.ru

Природная реконструкция генома представляет собой возможность молекулярного изменения мутантных локусов хромосом, в которой используется принцип дополнительного реконструирующего субстрата в виде «генетического материала» — фрагментов экстраклеточной дцДНК. Фрагменты захватываются и интернализуются во внутренние компартменты гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) естественным природным механизмом и индуцируют терминальную дифференцировку плюрипотентных ГСК, одним из маркеров которой является возникновение пангеномных одноцепочечных (ОЦ) разрывов. ОЦ разрывы переводят хроматин ядра в релаксированную форму, после чего происходит его реорганизация в выбранном направлении дифференцировки. В момент появления и репарации ОЦ разрывов в ГСК индуцируется «рекомбиногенная ситуация» (РС) и создаются условия для появления экстраклеточной генетической информации в составе реципиентного генома ГСК. Для доказательства предложенной концепции были выбраны три экспериментальных организма: человек, мыши и крысы. В работе в качестве индукторов использовались геномная фрагментированная до 1–10 нуклеосомных мономеров депротеинизированная дцДНК человека (hDNAgr), и в качестве фактора сравнения был выбран ангиогенин рекомбинантный человеческий.

В результате работы было продемонстрировано присутствие меченого дцДНК зонда и ангиогенина в CD34+ клетках костного мозга (ККМ) человека и Sca1 ККМ мыши. Было установлено, что ангиогенин и hDNAgr индуцируют образование колоний и терминальную дифференцировку ГСК у выбранных моделей. Основным отвечающим ростком является CFU-GM. Анализ появления и репарации ОЦ разрывов оценивался при помощи Comet Assay в щелочных условиях. Установлено, что максимальное количество ДНК в кометном хвосте для человеческой модели детектируется спустя 72–96 часов, для мышинной модели — спустя 96 часов инкубации после обработки клеток колоний hDNAgr. Это говорит о максимальной деградации хроматина ядра (~2,5–3,5 разрывов на 50Mb хроматина) в указанное время. Появление пангеномных ОЦ разрывов индуцирует РС в ГСК, в ходе которой возможно появление экстраклеточной генетической информации, интегрированной в реципиентный геном, что является частью механизма молекулярной природной реконструкции генома.



Нокаут и делеция гена *UBE2A* приводят к нарушению Rho-ROCK сигнального пути и повышению клеточной подвижности нейтральных клеток, дифференцированных из ИПСК

А.В. Сурдина¹, А.В. Федоренко¹, Е.А. Хомякова¹, Е.К. Секретова¹, Т.В. Лиманская¹, И. П. Смирнов¹,
И.Н. Лебедев², М.А. Лагарькова¹, А.Н. Богомазова¹

¹ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени Ю.М. Лопухина, ФМБА России,
Москва, 119435, Россия

² Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук, Томск 634050, Россия

asya.surdina@gmail.com

Белок *UBE2A* относится к семейству E2 убиквитин-связывающих ферментов, которые участвуют в процессе убиквитинирования белков-субстратов. Дисфункция гена *UBE2A* связана с синдромом врожденной X-сцепленной умственной отсталости по типу Насименто. Базы данных также содержат сведения о случаях умственной отсталости, связанной с дупликацией локуса, содержащего ген *UBE2A*. Однако до сих пор неизвестно, какую роль играет ген *UBE2A* в развитии центральной нервной системы. Целью настоящей работы было определение ключевых путей в нейтральных клетках, на которые влияют аномалии дозы гена *UBE2A*.

Используя CRISPR-Cas9 геномное редактирование и лентивирусную трансдукцию индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) здорового донора, мы создали изогенные ИПСК с нокаутом и индуцибельной гиперэкспрессией гена *UBE2A*. Дополнительно мы получили линию ИПСК пациента с синдромом Насименто, у которого выявлена делеция гена *UBE2A*. ИПСК пациента и изогенной системы были дифференцированы в клетки нейрональных предшественников (NPCs) и глию для последующего анализа транскриптома, протеома и клеточной подвижности.

Сравнительный анализ транскриптома и протеома выявил сходное снижение в экспрессии генов Rho-ROCK сигнального пути в NPCs и глии, полученных как из ИПСК пациента, так и в изогенных ИПСК с нокаутом и с гиперэкспрессией гена *UBE2A*. Белки Rho-ROCK-пути являются ключевыми сигнальными белками, необходимыми для направленного роста нейритов и образования синаптических связей. Однако мы показали, что скорость миграции глиальных клеток повышается в отсутствие гена *UBE2A*, но не при его гиперэкспрессии.

Таким образом, Rho-ROCK сигнальный путь оказался чувствительным к аномалиям дозы гена *UBE2A*, при этом клеточная подвижность оказалась измененной только в отсутствие гена *UBE2A*.

Работа выполнена при финансировании РФ, грант № 21-65-00017.



Генетические подходы в изучении и практическом применении плюрипотентных стволовых клеток

А.Н. Томилин¹

¹ Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург
a.tomilin@incras.ru

Открытие плюрипотентных стволовых клеток, в первую очередь эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) и индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК), явившееся одним из самых важных событий биомедицины последних десятилетий, предоставило широчайшие возможности в создании моделей заболеваний и тканезаместительной терапии у человека. Генетический инструментарий позволяет, с одной стороны, подробно изучать молекулярные механизмы самообновления и дифференцировки ЭСК/иПСК, а также индукции плюрипотентности, а с другой стороны, более эффективно и безопасно реализовать потенциал ЭСК/иПСК в практическом русле. В докладе освещены текущее состояние дел в данной области биомедицины, представлены наиболее значимые результаты исследований последних лет лаборатории молекулярной биологии стволовых клеток ИНЦ РАН, касающиеся как фундаментальных, так и прикладных аспектов изучения ЭСК/иПСК.

Исследования проводились при финансовой поддержке Минобрнауки (Соглашение № 075-15-2021-1075 от 28-09-2021).



Использование технологии церебральных органоидов в изучении неврологических заболеваний человека

Т.А. Шнайдер¹, А.М. Юнусова¹, А.С. Чвилёва², С.А. Яковлева², М.А. Дымова³, А.В. Смирнов¹,
И.Е. Пристяжнюк¹, Е.В. Кулигина³, В.А. Рихтер³, О.Л. Серов¹

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН

² Новосибирский государственный университет

³ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

shnyder.t@yandex.ru

Неврологические заболевания человека представляют собой большую группу гетерогенных по этиологии, времени манифестации и клиническим проявлениям болезней. Многие из них приводят к инвалидности и являются одной из основных по значимости причин смертности во всем мире. Терапия для большинства из них малоэффективна или не разработана. Трудности в поиске эффективных терапевтических подходов могут быть устранены путем детального изучения клеточных и молекулярных механизмов подобных патологий. В связи с этим, создание релевантных моделей для исследования таких заболеваний является первоочередной задачей.

Несмотря на консервативность различных этапов нейрогенеза у млекопитающих, многие видоспецифические аспекты развития и функционирования головного мозга человека невозможно точно воспроизвести на модельных животных. Однако революционные технологии последних двух десятилетий, включая репрограммирование соматических клеток, редактирование генома, а также трехмерные клеточные культуры (органоиды), позволяют преодолеть подобные ограничения.

В нашей работе мы применяем вышеперечисленные подходы для решения различных фундаментальных и прикладных задач. В первую очередь мы исследуем патологии развития головного мозга человека, вызванные мутациями в гене *CNTN6*. Нами установлено, что белок *CNTN6* вовлечен в процесс формирования нейроэпителиальных клеток и регуляцию пролиферации клеток радиальной глии и действует преимущественно через сигнальный путь NOTCH. Кроме того, нами обнаружено, что *CNTN6* участвует в ядерно-цитоплазматической транслокации белка PAX6, одного из ключевых регуляторов развития кортекса.

Также с помощью церебральных органоидов мы изучаем роль предполагаемых регуляторных участков генома HAR (human accelerated region) в нейрогенезе и эволюции человека. Это высококонсервативные некодирующие последовательности ДНК млекопитающих, но у человека за последние несколько миллионов лет темп их изменения значительно превысил скорость мутации генома в целом. Полученные нами предварительные данные указывают на важную роль HAR-элементов, обнаруженных в локусе *CNTN6*, в процессе формирования нейроэпителиальных клеток в раннем нейрогенезе человека.

Помимо этого, мы применяем технологию церебральных органоидов для прикладных целей, в частности моделирования процессов формирования, роста и инвазии клеток глиобластомы, а также исследования эффективности онколитических вирусных.

Работа выполнена при поддержке РФФ № 24-24-00447.

Симпозиум 15: Проблемы селекции растений следующего поколения
Symposium 15: Problems of Next Generation Plant Breeding



Генетические основы селекции овощных пасленовых культур на повышение антиоксидантных свойств плодов

О.Г. Бабак¹, Е.В. Дрозд¹, Н.А. Некрашевич¹, Н.В. Анисимова¹, К.К. Яцевич¹, И.Г. Пугачева²,
И.Е. Баева², Т.В. Никонович², М.М. Добродькин², А.В. Кильчевский¹

¹ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск

² Белорусская государственная сельскохозяйственная академия, Горки

babak_olga@mail.ru

Потребность современного общества в продуктах для здорового питания обеспечивает интерес к созданию сортов овощных культур с высокими антиоксидантными свойствами, одним из путей повышения которых является увеличение содержания каротиноидов и антоцианов в плодах. В связи с этим изучение вопросов генетической регуляции накопления данных групп пигментов, характера генетической взаимосвязи процессов биосинтеза каротиноидов и антоцианов и поиск новых способов повышения их концентрации является актуальной задачей. На основе секвенирования генов MYB транскрипционных факторов, регулирующих накопление антоцианов у томата (*Ant1*, *An2* и *Atv*), перца (*Myb113-like1*, *Myb113-like2*, *ETC3-1*, *ETC3-2*) и баклажана (*Myb1*, *SmeATV*), у образцов с различным уровнем накопления антоцианов выявлен ряд полиморфизмов, изучена их связь с особенностями накопления антоцианов в расщепляющихся популяциях. Разработаны молекулярные маркеры, связанные с активным накоплением или нарушением процесса биосинтеза антоцианов в плодах и вегетативных органах.

С использованием методов молекулярного маркирования, биохимического анализа и полевых испытаний установлен характер взаимосвязи генетической регуляции накопления каротиноидов и антоцианов у томата — максимальное накопление антоцианов в плодах образцов с комплексом аллелей *Ant1*, *An2-Aft*, *atv*, *Y*, *U* сопряжено с уменьшением концентрации каротиноидов в плодах.

С использованием методов МАС создан новый селекционный материал и более 50 гибридов F₁ *S. lycopersicum* с комплексом аллелей качества плодов (*t*, *B*, *og^c*, *Ant1*, *An2*, *atv*, *Y/y*, *U/U-del52*) и R-аллелями (*Ph3*, *I-2*, *I-3*, *Cf4*, *Cf-5*, *Cf9*, *Ve*, *Ty-3*). Получены новые образцы *S. annuum*, несущие аллели пигментного состава в различных комбинациях (*Ccs+/-*, *Cl/cl*, *APRR2-Like*, *Myb113-like1-promIns148*, *Myb113-like1-delT*, *Myb113-like2-SNP C/A*) в сочетании с хозяйственно-ценными генами устойчивости к болезням и вредителям (*pvr1*, *Cvr1*, *Me1*, *Phyto 5.1*). По результатам оценки в 2021–2023 годах два гибрида F₁ томата с повышенным содержанием антоцианов, каротиноидов и продуктивностью на уровне лучших стандартов, а также 1 сорт томата и 2 сорта перца сладкого с высокими биохимическими показателями и продуктивностью переданы для государственного сортоиспытания.



Особенности передачи чужеродной хромосомы хлопчатника от вида *G. barbadense* L. к виду *G. hirsutum* L. в беккроссном поколении BC₄F₁

Ш. У. Бобохужаев¹, М. Ф. Санамьян¹, Ш. С. Абдукаримов²

¹ Национальный университет Узбекистана им. М. Улугбека г. Ташкент, Узбекистан

² Центр геномики и биоинформатики АН РУз, Ташкент, Узбекистан

bobohujayev@mail.ru

В Национальном университете Узбекистана создана новая коллекция моносомных линий хлопчатника (Sanamyan et al., 2014), на основе которой начато создание хромосомо-замещенных линий (Санамьян и др., 2016). Нами была разработана новая схема по получению хромосомо-замещенных линий, которая позволяет проводить проверку присутствия чужеродного генетического материала на всех этапах беккроссирования с помощью молекулярно-генетического и цитогенетического скрининга (Sanamyan et al., 2022), в отличие от ранее предложенной схемы (Saha et al., 2012).

При изучении четырех беккроссных семей в двух вариантах скрещиваний (BC₄F₁(Mo58хBC₃F₁(1030₁₄)) и BC₄F₁(Mo59хBC₃F₁(491₂))) с предполагаемым замещением хромосомы 4 At-субгенома хлопчатника, были обнаружены два моносомных беккроссных растения с участием линии Mo58 и десять моносомных беккроссных растений с участием линии Mo59, которые характеризовались присутствием полиморфных аллелей только от вида *G. barbadense*, тогда как аллели вида *G. hirsutum* отсутствовали, что указало на локализацию хромосомо-специфичных SSR-маркеров BNL2572, TMB0809, Gh107, Gh117, Gh124, а также выявило их моносомный цитотип. К сожалению, в варианте BC₄F₁(Mo60хBC₃F₁(100₄)) не было обнаружено моносомных гибридных проростков, поэтому судить о замещении хромосомы не представилось возможным.

Молекулярно-генетический анализ четырех гибридных беккроссных семей в варианте BC₄F₁(Mo34хBC₃F₁(27₃)) позволил выявить четыре моносомных гибрида с замещением хромосомы 6 At-субгенома хлопчатника, которые характеризовались присутствием полиморфных аллелей от вида *G. barbadense*, тогда как аллели вида *G. hirsutum* отсутствовали, основываясь на локализации трех хромосомо-специфичных SSR-маркера — Gh039, Gh082 и TMB1538. Поскольку прежде эти идентифицированные маркеры были локализованы на хромосоме 6 At-субгенома хлопчатника (Gutierrez et al., 2009), мы допускаем, что замещение этой хромосомы было подтверждено у изученных моносомных проростков, цитологический статус которых был подтвержден цитогенетическим анализом.

Таким образом, в результате проведения молекулярно-генетического и цитогенетического анализа в трех вариантах беккроссных гибридов BC₄F₁ были обнаружены моносомные растения с замещением хромосомы от донорного вида *G. barbadense*. К сожалению, передачи чужеродной хромосомы 4 At-субгенома вида *G. barbadense* в BC₄F₁ не наблюдалось.



Влияние патогенов на мезо- и ультраструктуру листьев картофеля

Е.С. Богданова¹, А.Л. Бакунов², Н.А. Саблина¹, Д.М. Ульянова¹, В.Н. Нестеров¹, О.А. Розенцвет¹

¹ Самарский федеральный исследовательский центр РАН, Институт экологии Волжского бассейна РАН, Тольятти, Россия.

² Самарский федеральный исследовательский центр РАН, Самарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. Н.М. Тулайкова, г. Безенчук, Россия

cornales@mail.ru

Потери урожайности и качества картофеля (*Solanum tuberosum* L.), за счет заболеваний, вызванных патогенными микроорганизмами, несут с собой большой экономический риск и угрозу глобальной продовольственной безопасности. Инфекционные болезни картофеля проявляются в виде разнообразных мозаик, деформаций, хлороза листьев, отмирания отдельных частей растений или участков тканей, что в конечном итоге приводит к снижению роста и продуктивности. Характер и степень выраженности патологического процесса зависит от вида и штамма возбудителя, свойств сорта и комплекса условий среды.

Целью данной работы было исследование особенностей изменения мезо- и ультраструктуры листьев картофеля при поражении вирусом М и грибом *Alternaria spp.* На поперечных срезах листьев показано, что у незараженных растений клетки палисадной ткани расположены в один слой и плотно друг к другу. Клетки губчатой паренхимы имеют преимущественно округлую форму, расположены рыхло и образуют большие межклетники. Мезоструктура листьев, пораженных вирусом, отличается более плотным сложением губчатой паренхимы и меньшим межклеточным пространством. Инфицирование тканей грибковой инфекцией затрагивает клетки губчатой паренхимы, расположенные близко к проводящему пучку, в некоторых из них отсутствуют хлоропласты. Оба вида патогенов вызывали изменения ультраструктуры хлоропластов: при действии грибковой инфекции снижалась длина хлоропласта, а при заражении вирусом — ширина. Но объем хлоропластов достоверно снижался только при заражении грибковой инфекцией. В этом же случае увеличивалось количество хлоропластов.

Исследование липидного комплекса показало, что изменение ультраструктуры хлоропластов сопряжено с модификацией клеточных органелл и содержанием таких пластидных липидов, как моно-(МГДГ) и дигалактозилдиацилглицерины и фосфатидилглицерин. Особенно сильно поражение патогенами затрагивало МГДГ, содержание которого снижалось в 2 и более раз по сравнению со здоровыми листьями.

Общее содержание фотосинтетических пигментов снижалось под действием обоих видов патогенов. Но грибковая инфекция приводила к двукратному снижению концентрации Хл а и 50% снижению концентрации Хл в и Кар. Действие вируса М на пигментный аппарат было менее выраженным, снижение всех групп пигментов не превышало 25%.

Таким образом, выявлена специфичность действия патологического воздействия возбудителей вирусной и грибковой инфекций на уровне мезо- и ультраструктуры хлоропластов, а также липидного и пигментного компонентов фотосинтетического аппарата.

Работа поддержана грантом РФФИ № 23-26-10020.



Коллекция генетических ресурсов зернобобовых ВИР как объект молекулярно-генетических исследований

М.А. Вишнякова¹

¹ ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» (ВИР)

m.vishnyakova.vir@gmail.com

Первый проект (грант РФФИ № 06-04-48869) по применению молекулярных маркеров к изучению коллекции зернобобовых ВИР, выполняемый совместно с Центром Биоинженерии РАН, был посвящен молекулярной филогении рода *Lathyrus* и использовал первое поколение ДНК-маркеров, получивших широкое распространение в 1980-е годы — RAPD и AFLP. В следующем проекте (грант РФФИ № 09-04-00574) по молекулярной филогении трибы *Viceae* (роды *Lathyrus*, *Vicia*, *Lens*, *Pisum*) к этим маркерам добавилось исследование нуклеотидного полиморфизма ITS1–5.8S–ITS2 ITS и последовательностей б/с интрона митохондриального гена *Nad1*. Впоследствии в совместном исследовании с китайскими коллегами эту тему изучали с применением EST-SSR маркеров. Были уточнены таксономический статус некоторых спорных представителей трибы, объем и размеры некоторых секций, филогенетические связи в пределах трибы.

RAPD и AFLP маркеры применяли и в другом исследовании — для идентификации дублетных образцов в коллекции гороха, а также выявления дифференциации коллекции по типам использования. Посредством RBIP и SSAP маркеров анализировали место коллекции гороха ВИР в системе европейских коллекций в качестве соисполнителей в международном консорциуме.

В совместных исследованиях с кафедрой биоинформатики СПбПУ имени Петра Великого, финансируемых несколькими грантами РФФИ, стали вопросы доместикации, распространения, влияния окружающей среды на генетическое разнообразие видов культурных зернобобовых. Эти вопросы решали посредством генотипирования путем секвенирования и полногеномного поиска ассоциаций на предварительно фенотипированном в системе опытных станций ВИР материале. Выявлен целый ряд особенностей распространения культур из центров происхождения. На примере маша (*Vigna radiata*) показано, что наряду с человеческой деятельностью пути миграции культуры сильно корректируются ее климатической адаптацией. Аналогичные результаты получены для нута. Кроме того, на гибридных популяциях культурного вида *Cicer reticulatum* L. с диким *C. echinospermum* выявлены некоторые генетические детерминанты дикого вида перспективные для интрогрессии в культурный. В рамках Международного проекта (грант РФФИ 16-16-00007) произведен обмен гермоплазмой маша и урда с Международным овощным генбанком Тайваня. Фенотипирование коллекции этого банка на Кубанской ОС ВИР и проведенный на его основе анализ GWAS выявил большое количество интервалов генома и потенциальных генов-кандидатов, которые могут влиять на важные агрономические характеристики.

В рамках сотрудничества с коллегами из ВНИИСХМ в проекте по гранту РФФИ № 21-16-00084 осуществлено секвенирование генома микросимбионта гуара, выделенного из ризосферы образцов коллекции ВИР, *Rhizobium* sp. штамма RCAM05973.

Здесь перечислены не все исследования с применением молекулярно-генетических методов для изучения коллекции зернобобовых ВИР, разнообразие которой предоставляет возможности их эффективного использования для решения многочисленных задач биологии, а также для селекции нового поколения.



Селекция риса на повышение продуктивности и устойчивости к стрессовым факторам среды

Г.Л. Зеленский¹, Е.Ю. Гненный¹, М.А. Ткаченко¹

¹ Федеральный научный центр риса
zelensky08@mail.ru

Российский рис выращивается на северной границе возделывания культуры при умеренном климате. Здесь условия среды существенно отличаются от тропической зоны, откуда родом культурное растение риса. Ограниченный климатом вегетационный период сортов риса до 125 дней, длинный день летом около 16 часов, значительные перепады температуры днем и ночью, суховей в период цветения и налива зерна, поражение растений пирикулярриозом — такие негативные факторы сдерживают рост продуктивности риса в России по сравнению с мировым рисоводством.

Благодаря созданным сортам и улучшению технологии их выращивания, средняя урожайность риса в России в 2023 г. составила 6,24 т/га, в Краснодарском крае превысила 7,0 т/га.

Практика ведущих мировых селекционных центров показала, что дальнейшее увеличение продуктивности риса возможно за счет изменения морфотипа растения. Такая селекционная работа была начата во ВНИИ риса (ныне ФНЦ риса) в 1982 г. Учитывая, что в Российской Федерации принят посевной тип культуры риса, урожай биомассы формируется главным образом за счет густоты стеблестоя растений. Поэтому новый сорт должен иметь высокоозерненную метелку и эректоидные листья, чтобы значительно уменьшить конкуренцию растений за свет при их загущении. Донором эректоидности листьев послужил позднеспелый коллекционный образец К-01209 с массой 1000 зерен около 20 г. После четырехкратной серии скрещиваний и повторных отборов с проверкой по потомству был получен вертикальнолистный сорт риса Полюс-5, который успешно прошел Госиспытание, внесен в Госреестр РФ и допущен к использованию в производстве с 2023 г. В опыте, при загущенном посеве и повышенном уровне минерального питания, максимальная урожайность сорта Полюс-5 составила 1380 г/м². При этом $K_{хоз}$ по вариантам опыта был в пределах 0,50–0,51.

В условиях Краснодарского края регулярно отмечается явление воздушной засухи, когда температура воздуха поднимается свыше 30 °С и дует сухой восточный ветер. Так, в 2018 г. здесь наблюдался суховей с начала июля 55 дней подряд, а в 2019 г. — 56 дней. В связи с этим начата селекционная работа по созданию засухоустойчивых сортов риса. В качестве донора использован сорт Австрал, у которого при засухе листья сворачиваются в трубку. Используя межсортовую гибридизацию, мы получили высокопродуктивные образцы риса с новым морфотипом, сочетающие эректоидность и сворачиваемость листьев в трубку при воздушной засухе.



Использование отдаленной гибридизации для биофортификации пшеницы цинком в условиях его дефицита

Н.М. Казнина¹, Н.И. Дубовец², Н.С. Репкина¹, О.А. Орловская², Ю.В. Батова¹, А.А. Игнатенко¹

¹ Институт биологии Карельского научного центра РАН

² Институт генетики и цитологии НАН Беларуси

kaznina@krc.karelia.ru

Недостаток цинка в организме отрицательно сказывается на здоровье и качестве жизни человека, поэтому проблема восполнения его дефицита стоит довольно остро. Одним из путей ее решения является обогащение цинком растительной пищи. Весьма перспективной в этом плане является технология генетической биофортификации зерновых культур, основанная на отдаленной гибридизации с применением маркер-опосредованного отбора. Об этом свидетельствуют результаты интрогрессии от дикого вида *Triticum dicoccoides* в геном сортовой пшеницы гена *Gpc-B1*, кодирующего NAC-доменный белок, что приводило к более высокому содержанию белка и ряда микроэлементов в зерне полученных линий.

Целью данной работы было оценить перспективность использования генофонда *T. dicoccoides* для повышения содержания цинка в зерне мягкой пшеницы, в том числе при выращивании на почвах с его недостатком. В исследовании использовали линии, полученные отскрещивания *T. dicoccoides* *T. aestivum* сорт Фестивальная: 15-7-1 и 13-3 с функционально активным аллелем гена *Gpc-B1* и 15-7-2 и 16-5 — с его нефункциональной копией.

Растения выращивали при оптимальном содержании цинка в субстрате или его дефиците. Обнаружено, что у растений всех изученных образцов длина и биомасса колоса, число зерен в колосе и урожай зерна при оптимальном содержании цинка в субстрате и его дефиците практически не различались. При этом у растений линий 15-7-1 и 13-3 содержание цинка в зерне, независимо от его содержания в субстрате, оказалось более высоким, что корреспондировало с большим уровнем экспрессии гена *TaHMA2* (*heavy metal ATPase*), кодирующего белок, транспортирующий ионы цинка через плазмалемму в сосуды ксилемы и флоэмы. Высказано предположение, что транскрипционный фактор NAC, кодируемый геном *Gpc-B1*, может участвовать в регуляции уровня экспрессии генов транспортных белков.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о перспективности использования метода отдаленной гибридизации для биофортификации зерна пшеницы цинком, в том числе при выращивании растений на почвах с низким содержанием этого микроэлемента.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 20-516-00016) и БРФФИ (грант № Б20Р-240).



Селективные среды и удвоенные гаплоиды, или как в трех чашках Петри создать качественный материал для работы селекционера на годы вперед

Е. В. Козарь¹, Е. А. Домблидес¹

¹ ФГБНУ ФНЦО, Одинцово

koz.leno4ek@gmail.com

Для решения проблемы продовольственной безопасности РФ необходимо ускоренное создание конкурентноспособных отечественных гибридов озимого рапса. Сейчас одним из основных направлений его селекции является селекция на устойчивость к гербицидам широкого спектра действия. В России пока нет подобных гибридов озимого рапса.

Изолированная культура микроспор *in vitro* (ИМС) представляет собой передовой метод получения удвоенных гаплоидов. Нами разработан модифицированный метод выделения микроспор семейства Brassicaceae, превосходящий результаты, полученные стандартным методом выделения микроспор. Мы обнаружили, что новый метод позволяет увеличить процент микроспор на эмбриогенной стадии развития в культуре. В культуре рапса ярового «Ратник» процент микроспор увеличивается с 66,7% до 73%, а в редисе европейском «РБК» — с 34% до 61,9%. Кроме того, новый метод выделения микроспор позволил расширить диапазон линейных размеров почек (от 3,5–4,0 до 3,0–4,5 мм для ярового рапса «Ратник»), пригодных для ИМК-технологии. Кроме того, новый метод выделения микроспор позволил снизить засоренность при приготовлении рапса ярового «Ратник» и редиса европейского «РБК» в 2,4 и 15 раз соответственно. Наилучшие результаты показали на сарептской горчице № 72, где выход эмбриоидов увеличился в 7,5 раза. Примечательно, что новый метод выделения микроспор позволил нам получить первые эмбриоиды краснокочанной капусты № 428, тогда как при использовании стандартного метода выделения микроспор эмбриоиды получены не были. Таким образом, новый метод выделения микроспор позволяет повысить эффективность технологии ИМК для культур семейства Brassicaceae.

1. Kozar, E. V.; Kozar, E. G., Domblides, E. A. Effect of the Method of Microspore Isolation on the Efficiency of Isolated Microspore Culture In Vitro for Brassicaceae Family // Horticulturae 8, 864 (2022). <https://doi.org/10.3390/horticulturae8100864>).

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-76-01070, <https://rscf.ru/project/23-76-01070>.



Маркёр-ориентированная селекция плёнчатых и голозёрных линий ячменя с повышенным содержанием антоцианов в зерне

Т.В. Кукоева¹, К.А. Молобекова², О.Ю. Шоева¹, Е. К Хлёткина³

¹ 1 ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Россия, Новосибирск; 2 ФИЦ ВИР Россия, Санкт-Петербург.

² 1 ФИЦ ИЦиГ СО РАН, Россия, Новосибирск.

³ 2 ФИЦ ВИР Россия, Санкт-Петербург.

kukoeva-tatjana@rambler.ru

Ключевые слова: алейрон, ДНК маркер, перикарп, *Ant1*, *Ant2*, *HvMyc2*, *Nud1*, *Hordeum vulgare* L.

Всё большую значимость в селекционно-генетических исследованиях приобретает маркёр-ориентированный отбор (Marker-Assisted Selection — MAS). Он позволяет быстро и точно отбирать ценные генотипы из генотипически разнородного селекционного материала. Целью работы было получение селекционного материала ячменя, накапливающего антоцианы в зерне, на основе районированных сибирских сортов. Были разработаны эффективные схемы создания такого материала, включающие этапы отбора с использованием молекулярных маркеров.

В качестве материнских форм были выбраны сорта: Алей, Биом, Ворсинский2, Танай, Красноярский1. В качестве отцовских форм — почти-изогенные линии сорта Bowman: PLP “Purple lemma and pericarp” (донор доминантных аллелей генов *Ant1*, *Ant2*, контролирующих фиолетовую окраску перикарпа), P18 (донор доминантного аллеля гена *Ant2*) и ВА “Intence blue aleurone” (донор доминантного аллеля гена *HvMyc2*, контролирующего голубую окраску алейрона, и рецессивного аллеля гена *Nud1*, определяющего голозёрный фенотип).

Среди гибридов F_2 , полученных после скрещивания родительских форм, с помощью специфичных праймеров к генам *Ant1*, *Ant2* и *HvMyc2* были отобраны гомозиготные растения по фиолетовой и голубой окраске. На сортах Алей, Ворсинский2, Танай получены гибриды поколения F_{11} и изогенные линии поколения BC_6F_6 . На сортах Биом и Красноярский1 получены гибриды поколения BC_1F_4 с фиолетовой окраской перикарпа. Все отобранные растения высевались в поле для проведения структурного анализа по 11 признакам. Содержание антоцианов и антиоксидантная активность в зерне измерялись с помощью спектрофотометра.

Кроме отобранных плёнчатых фиолетовозёрных и голубозёрных линий, на сортах Алей, Ворсинский2, Танай были получены также плёнчатые чернозёрные линии, накапливающие антоцианы одновременно и в перикарпе, и в алейроне. Для их получения было проведено скрещивание линий с фиолетовой и голубой окраской зерна, из полученных гибридов F_2 с помощью ДНК маркеров отобрали растения гомозиготные по трём генам *Ant1*, *Ant2*, *HvMyc2*.

На основе сорта Ворсинский 2 разработана схема получения голозёрных линий с антоциановой пигментацией зерна. Было проведено скрещивание плёнчатой фиолетовозёрной линии Ворс2-PLP BC_6F_6 (*Ant1*, *Ant2*) и голозёрной голубозёрной линии Ворс2-ВА BC_6F_6 (*HvMyc2*, *Nud1*). Из полученных гибридов F_2 с помощью ДНК маркёров отобраны растения с различными комбинациями доминантных и рецессивных аллелей генов *Ant2* и *HvMyc2*, но несущих рецессивный аллель гена *Nud1*. В результате на основе сорта Ворсинский2 получен набор голозёрных линий, с фиолетовой, голубой и черной окраской зерна.

Используя новые методы селекции, а также накопленную информацию о генах, контролирующие процесс биосинтеза флавоноидов, можно упростить и сократить процесс получения новых сортов с повышенным содержанием антоцианов в зерне.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 21-76-10024.



Широкое распространение сортов яровой твердой пшеницы Саратовской селекции в (другие регионы возделывания) в связи с изменением климата

И.В. Милованов¹, С.Н. Гапонов¹, Г.И. Шутарева¹, Н.М. Цетва¹, И.С. Цетва¹, Н.А. Бурмистров¹,
Е.С. Жиганова¹, Н.С. Соловова¹

¹ ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Восток»

miliv13@yandex.ru

Ключевые слова: яровая твердая пшеница (*Triticum durum* Desf.), изменение климата, продуктивность сортов.

Цель исследования: выведение новых сортов яровой твердой пшеницы в условиях изменения климата в Поволжье.

Исследования показывают, что современные условия возделывания твердой пшеницы значительно изменяются. В ряде регионов России, таких как: Алтайский край, Челябинская область, Оренбургская область, Омская область идет возникновение недостаточности увлажнения, вызванными различными видами засух. В длительных прогнозах погодных условий к 2030–2039 гг. значительно возрастет количество сильных засух, что понесет за собой снижение урожайности яровых культур (Павлова, 2020). В многолетних данных «ФАНЦ Юго-Восток», полученных лабораторией метеорологии, прослеживается тенденция к повышению температуры во время вегетации яровой твердой пшеницы с 18,1–19,8°С. На фоне повышения температуры происходит снижение осадков со 150 мм до 129 мм.

Селекционеры, работающие в зоне рискованного земледелия, ведут отбор по двум важнейшим направлениям. В первых, на снижение времени вегетации (особенно периода всходы — колошение), во-вторых, на повышение продуктивности и качества сортов (количество каротиноидов, качество клейковины).

Таким образом, влияние погодных условий заставляет фермеров выбирать, при возделывании яровой твердой пшеницы, засухоустойчивые сорта саратовской селекции, дающие стабильный урожай в неблагоприятные годы вегетации яровых культур. К таким сортам можно отнести два современных сорта яровой твердой пшеницы: Памяти Васильчука (2020) и Тамара (2022).



Влияние метеорологических условий на формирование хозяйственно-ценных признаков яровой пшеницы в условиях ЦРНЗ

Б.Б. Наджодов^{1,2}, В.В. Пыльнев¹, В.С. Рубец², И.Н. Ворончихина³

¹ ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева,
127550, Москва, ул. Тимирязевская, 49

² ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии,
127550, Москва, ул. Тимирязевская, 42

³ ФГБУН Главный ботанический сад имени Н.В. Цицина,
127276, Москва, ул. Ботаническая, д. 4

boburnajodov@gmail.com

За последние 50 лет наблюдается общее потепление климата, в том числе и в условиях ЦРНЗ. В отдельные годы сумма активных температур повышается до 1950–2400 °С, а количество осадков может сокращаться до 190–230 мм. В итоге ГТК за вегетацию снизился с 1,8–1,6 до 1,1–1,4. Это ставит перед селекцией яровой пшеницы новые задачи по созданию сортов с высокой адаптацией к подобным изменениям условий вегетации. Поскольку основой любого селекционного процесса является исходный материал, то его всестороннее изучение в изменчивых природно-климатических условиях способствует объективному подбору родительских форм для проведения скрещивания.

Целью нашего исследования являлась оценка влияния метеорологических условий на развитие вегетативных признаков, устойчивость к абиотическим и биотическим стрессам, а также на формирование урожайности и структуры урожая сортов яровой пшеницы. В ходе исследования было изучено 15 образцов яровой мягкой пшеницы, созданных в различных селекционных учреждениях России и Зарубежья. Исследования 2021–2023 годов показали, что метеоусловия оказали значительное влияние на урожайность большинства сортов. Особенно отзывчивыми к изменениям климата оказались сорта Маргарита, Учитель и Ирень, которые демонстрировали повышенную устойчивость при дополнительном увлажнении. Сорта Саратовская 74, Симбирцит, Тюменская 29, Обская 2 и Тобольская выявили высокую устойчивость к бурой ржавчине, а Фаворит и Симбирцит — к мучнистой росе. Эти же сорта, а также Маргарита, Фаворит и Тризо, проявили устойчивость к септориозу, что делает их ценным исходным материалом для дальнейшей селекции. Наиболее сильное влияние погодных условий наблюдалось при формировании продуктивной кустистости растений, числа и массы зерен с колоса, массы 1000 зерен и стекловидности. Засуха в период формирования и налива зерна снижала эти показатели, в то время как натура зерна оставалась наиболее стабильным показателем физических свойств зерна. Среди изученных сортов наиболее скороспелыми оказались Злата и Ирень, а высокую озаренность колоса продемонстрировали Агата, Алтайская жница, Маргарита, Учитель и Фаворит.

Результаты исследования подчеркивают важность адаптации селекционных программ к изменяющимся климатическим условиям для обеспечения устойчивого развития сельскохозяйственного производства в нечерноземной зоне России. В качестве морфологического маркера при отборе высокопродуктивных генотипов можно использовать показатель масса зерна с колоса и масса 1000 зерен.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2022–317 от 20 апреля 2022 г. о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».



Селекция томата (*Solanum lycopersicum* L.) на урожайность, устойчивость к болезням и качество продукции для открытого грунта в Беларуси

И.Г. Пугачёва¹, А.В. Французёнок¹, И.Е. Баева¹, М.М. Добродькин¹, Н.А. Некрашевич², Е.В. Дрозд²,
О.Г. Бабак², А.В. Кильчевский²

¹ Белорусская государственная сельскохозяйственная академия, Горки

² Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск

puhachova.irina@gmail.com

В Беларуси сумма активных температур ($\sum 10^\circ\text{C}$) за вегетацию составляет 2000–2500 $^\circ\text{C}$, безморозный период длится 140–180 дней, существует высокая вероятность заморозков до 1 июня. Поэтому гарантированный урожай томата ежегодно можно получить только в теплицах. Однако, в условиях изменяющегося климата, повышается значимость сортов и гибридов для возделывания в открытом грунте. Данная технология является более экономичной по сравнению с производством продукции в защищенном грунте.

Целью исследований является создание новых гибридов и сортов томата, сочетающих раннеспелость, высокую урожайность и качество продукции, генетическую устойчивость к наиболее вредоносным возбудителям болезней для климатических условий Республики Беларусь. При подборе пар для скрещиваний и создании нового селекционного материала использовали отбор при помощи молекулярных маркеров, отбор на уровне микрогаметофита по устойчивости к низким температурам и в присутствии фузариевой, абиетиновой, пантотеновой, жасмоновой, салициловой кислот. Материалом для исследований послужили сорта, гибриды F_1 , образцы с ценными хозяйственными признаками селекции БГСХА и ИГЦ НАН Беларуси.

В результате испытания по комплексу хозяйственно ценных признаков в 2021–2023 гг. выявлены гибриды F_1 и Линии, сочетающие детерминантный тип роста, высокую завязываемость плодов (77–91%), период от всходов до созревания первых плодов 88–101 день, урожай за первые три сбора в открытом грунте 1,0–2,5 кг/м², товарную урожайность — 8,4–11,4 кг/м², общую урожайность — 10,2–13,1 кг/м². Выделены образцы с содержанием сухого вещества 6,0–7,1%; каротина — 33–41 мг/кг; витамина С — 31–42 мг/100 г; растворимых углеводов 2,2–3,8%. В 2023 году выполнен контрольный анализ созданных сортов и гибридов с помощью молекулярных маркеров качества плодов и устойчивости к болезням. Подтверждено наличие в селекционных образцах целевых аллелей, связанных с накоплением различных форм каротиноидов и антоцианов в плодах (*t*, *B*, *ogc*, *hp2^{dg}*, *Ant1*); с устойчивостью к бронзовости плодов (*Sw-5*), кладоспориозу (*Cf-4*, *Cf-9*), фитофторозу (*Ph-3*), мелойдогинозу (*Me-1.2*, *Mi-9*), фузариозу (*I-2*, *I-3*), вертициллезу (*Ve*). Лучшие образцы под названиями Брусничный F_1 (*Ph-3*, *Cf-4*, *Cf-9*, *I-2*), Рада F_1 (*ogc*), Мансиата F_1 (*Cf-4*, *Cf-9*, *I-2*), Лилу (*B*) переданы для государственного сортоиспытания.

Работа с ценными селекционными образцами и сортами будет продолжена в рамках международного проекта БРФФИ Б23КУБ-009.



Селекционная ценность генетических интрогрессий от родственных видов в геном мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), связанных с технологическими свойствами зерна и муки: достижения и перспективы

Т.А. Пшеничникова¹, Л.В. Щукина¹, А.В. Симонов¹, А.Г. Клыков², С.Б. Лепехов³, В.П. Шаманин⁴,
А. Бёрнер⁵

¹ ФГБНУ «ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия

² Федеральный научный центр агrobiотехнологий Дальнего Востока имени А.К. Чайки, Уссурийск, Россия

³ Федеральный Алтайский научный центр агrobiотехнологий, Барнаул, Россия

⁴ Омский Аграрный университет имени П.А. Столыпина, Омск, Россия

⁵ Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben, Germany

wheatpsh@bionet.nsc.ru

Дикие сородичи сельскохозяйственных культур представляют собой значительный резервуар генетической изменчивости, которая может быть использована не только для повышения устойчивости сортов к природным стрессам, но и для расширения границ их конечного технологического назначения. Мягкая пшеница — основная злаковая культура России, зерно которой употребляется в пищу, на фураж и в технических целях. Её полиплоидный геном позволяет успешно поддерживать чужеродный генетический материал от видов-сородичей в виде хромосом или их фрагментов — интрогрессий. Они обогатили резерв генов устойчивости сортов к биотическим стрессам. Однако мало известно о расширении генетического разнообразия пшеницы по технологическим свойствам зерна и муки с помощью интрогрессий. В докладе будут представлены результаты многолетней работы по переносу интрогрессий от пяти видов из родов *Triticum* и *Aegilops* в хромосомы мягкой пшеницы, несущих генетические факторы, которые определяют состав и структуру эндосперма зерновки, мукомольные свойства, содержание белка и клейковины в зерне, физические свойства муки и теста. Были разработаны основные принципы, обеспечивающих успех этой работы и оценку селекционной ценности переносимых интрогрессий. Они обосновывают подбор и способ их передачи, а также их фенотипическую верификацию по технологическим свойствам зерна, компонентам урожая и другим агрономически важным признакам в различных условиях выращивания. В частности, показана надёжность генетически идентифицированных интрогрессий для повышения содержания белка и клейковины в зерне. Проведено маркирование участков интрогрессий в геноме пшеницы ДНК-маркёрами, адаптированными к массовому анализу гибридного материала.

Финансовая поддержка: Российский Научный Фонд (23-26-10046) и Новосибирская область (р-59).



Разнообразие образцов ячменя из восточной Азии по устойчивости к обыкновенной злаковой тле

Е.Е. Радченко¹, Р.А. Абдуллаев¹, Д.Е. Акимова¹, И.Н. Анисимова¹

¹ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург
abdullaev.1988@list.ru

Обыкновенная злаковая тля *Schizaphis graminum* Rondani — опасный вредитель ячменя и других зерновых культур на юге России. Эффективный и экологически безопасный способ борьбы с насекомым — возделывание устойчивых сортов. Характерное для фитофага дифференциальное взаимодействие с растением-хозяином обуславливает необходимость поиска новых доноров устойчивости. Оценили 778 образцов ячменя из стран Восточной Азии (313 — из Китая, 450 — Японии, 15 — Непала). В экспериментах использовали краснодарскую популяцию насекомого и выделенные из нее клоны. Выявили 40 гетерогенных образцов, у которых найдены растения с высоким уровнем устойчивости к тле. В результате оценки поврежденности 11 отобранных из гетерогенных образцов линий 108 клонами *S. graminum* выявили 52 фенотипа вирулентности насекомого. Эксперименты с тест-клонами тли показали, что все 11 линий имеют разные аллели устойчивости к обыкновенной злаковой тле, которые отличаются от идентифицированного ранее *Rsg1*, однако их эффективность низка. Частота клонов, вирулентных к десяти линиям и сорту Post (носитель *Rsg1*), варьирует от 60.4% до 98.0%. Исключение составляет устойчивая к популяции тли линия 15903, защищенная одним доминантным геном. Высокая устойчивость других линий против части природной популяции *S. graminum* также контролируется олигогенно. Линии 15600 и 16190 имеют по одному доминантному гену устойчивости, 28129 защищена двумя генами — доминантным и рецессивным. Рецессивный ген устойчивости возможен и у линии 15600. Выделенные из одного коллекционного образца линии 16237/1 и 16237/2 имеют по одному доминантному гену, эффективному против отдельных клонов тли. Утрата эффективности отчетливо проявляющихся генов устойчивости обуславливает экспрессию маскировавшихся ранее генов со слабым фенотипическим проявлением, которые дифференциально взаимодействуют с генотипами насекомого.



Селекция яровой твердой пшеницы на продуктивность и качество в Алтайском селекционном центре

М. А. Розова¹, Е. Е. Егиазарян¹

¹ ФГБНУ «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий»

mrosova@yandex.ru

Появление яровой твердой пшеницы в Западной Сибири под названиями Кубанка, Кубанская или Белотурка, согласно изысканиям П. И. Богдана и В. В. Ворожбитова (1955), приходится на 1833 г. Селекция культуры на Алтае началась в 1928 г. на Барнаульской районной сельскохозяйственной опытной станции. Были организованы экспедиции по сбору образцов культурных растений и было собрано 25 образцов твердой пшеницы в 14 районах средней и южной полосы левобережной части края. Основным методом селекционного улучшения культуры был внутрисортный отбор. Так был выведен первый сорт «твердая местная», который не только превосходил местные формы, но и первые селекционные сорта Гордеиформе 10 и Гордеиформе 432. Последующий период работа по твердой пшенице была непостоянной до создания в 1970 г. Алтайского селекционного центра. За это время созданы сорта Алтайка (1980), Гордеиформе 53 (1990), Алтайская нива (1991), Зарница Алтая (1996), Алтайский янтарь (2001), Алейская (2005), Салют Алтая (2008), Памяти Янченко (2012), Солнечная 573 (2016), Оазис (2017), Шукшинка (2022), АТП Прима (2023) и АТП Партнер (2024). Совместно с другими институтами созданы сорта Гордеиформе 53, Алтайская нива (Красноярский НИИСХ), Оазис (Сибирский НИИСХ), АТП Партнер и Безенчукская юбилейная (Самарский НИЦ РАН).

Целью селекционных исследований является создание взаимодополняющих комплексов сортов для различных природно-экономических зон Алтайского края и сопредельных территорий. Селекционный процесс ведется по полной схеме. Основным методом создания селекционного материала является внутри- и межвидовая гибридизация с последующим одно, двукратным отбором. Ежегодно гибридизация проводится по 75–110 комбинациям простых и сложных скрещиваний. Для реализации потенциала рекомбинационного процесса объем зерен F_1 составляет не менее 100 зерен. Проработка материала ведется по методу массовых популяций. Средний объем селекционного процесса составляет около 10...14 тыс. образцов. Исходный материал прорабатывается в коллекционном питомнике и по программе КАСИБ. Материал в питомник поступает благодаря обмену с другими селекционными центрами по договорам о сотрудничестве (Самарский НИЦ РАН, Актюбинская СХОС, ФАНЦ Юго-Востока), через личные контакты (University of Hohenheim, ФРГ; Омский АНЦ) или по договорам на использование сортов (Dacota Growers, США; MCX Канады; CGS Sementi SpA, Италия). Из родственных видов привлекаются генотипы *T. aestivum* L., *T. dicoccum* Schuebl.(Schränk.), *T. turanicum* Jacubz. и некоторые другие.

Сравнение ключевых сортов алтайской селекции с историческим стандартом Харьковская 46 (базовый на момент создания Алтайского селекцентра) показало поэтапный рост урожайности на 11,2 ...27,1% или от 3,22 у Харьковской 46 до 4,66 т/га на заключительном этапе. При этом повышение урожайности при стрессе было более выражено, чем в благоприятных условиях. В среднем за 3 неблагоприятных года урожайность стандарта составила 1,68 т/га, а урожайность созданных сортов была 3,58...4,66 т/га или на 14,9...66,1% выше, в благоприятных условиях — на 3,3...23,8%.

В процессе селекции качество твердой пшеницы контролируется по 15 физико-технологическим признакам. Инструментальная оценка начинается с СП-1 с определения SDS-седиментации и цвета крупы. В процессе селекции удалось повысить крупность зерна, улучшить упруго-эластичные свойства теста, цветовые характеристики, сохранить на достаточно высоком уровне содержание белка, стекловидность и выход крупки. Сорта последнего поколения — Шукшинка и АТП Прима, внесены в список ценных по качеству сортов Национальной ассоциации производителей макаронных изделий.



Особенности интрогрессии и элиминации чужеродных хромосом у беккроссных гибридов хлопчатника

М. Ф. Санамьян¹, Ш. У. Бобохужаев¹

¹ Национальный университет Узбекистана им. М. Улугбека г. Ташкент, Узбекистан

sanam_marina@rambler.ru

Создание линий с замещением специфических хромосом хлопчатника вида *G. hirsutum* L. хромосомами вида *G. barbadense* L. представляет большой интерес для возможностей интрогрессии аллелей, контролирующих признаки улучшенного качества волокна. Комплексный скрининг гибридов разных поколений беккроссов, полученных от скрещиваний моносомных линий хлопчатника *G. hirsutum* с беккроссными моносомными гибридами, выявил низкую скрещиваемость и отсутствие воспроизводства моносомного состояния: у гибридов BC₁F₁ (с участием линий Мо11, Мо13, Мо67); у гибридов BC₂F₁ (с участием линии Мо66); у гибридов BC₃F₁ (с участием линии Мо94) и гибридов BC₄F₁ (с участием линии Мо60), что негативно сказалось на процессе передачи чужеродных хромосом и потребовало дополнительных исследований. Изучение беккроссных гибридов на стадии проростков с помощью молекулярно-генетических SSR-маркеров обнаружило элиминацию чужеродных хромосом у моносомных гибридов BC₁F₁ (с участием линии Мо27с нехваткой хромосомы 7 A_t-субгенома и линии Мо48 с нехваткой хромосомы 18 D_t-субгенома), а также у гибридов BC₂F₁ (с участием линии Мо16 с нехваткой хромосомы 2 A_t-субгенома) вида *G. barbadense*. Кроме того, были выявлены генетические различия по профилю хромосома-специфичных микросателлитных SSR-маркеров с присутствием аллелей двух видов хлопчатника у разных моносомиков внутри BC₁F₁ (с участием линии Мо95с нехваткой хромосомы 6 A_t-субгенома) и среди моносомиков BC₃F₁ (с участием линии Мо60 с нехваткой хромосомы 4 и линии Мо34 с нехваткой хромосомы 6 A_t-субгенома). Все другие беккроссные варианты разных поколений беккроссов характеризовались присутствием замещений по специфическим хромосомам генома хлопчатника, нехватки которых были обнаружены у исходных моносомных линий.

Таким образом, использование комплексного молекулярно-цитогенетического анализа беккроссных гибридов поколения BC₁F₁-BC₄F₁ выявило преимущественную интрогрессию хромосом 4, 6, 12 A_t-субгенома и 22 D_t-субгенома вида *G. barbadense*, элиминацию хромосом 2 и 7 A_t-субгенома и хромосомы 18 D_t-субгенома вида *G. barbadense*, а также генетические различия между моносомиками внутри беккроссных потомств, что указало на специфические особенности в интрогрессии чужеродных хромосом хлопчатника *G. barbadense* в геном *G. hirsutum*.



Развитие нового направления селекции столовой свеклы на повышенное содержание бетанина

Д. В. Соколова¹, А. М. Зарецкий¹, Н. А. Швачко¹, А. С. Михайлова¹, В. С. Попов¹, А. Е. Соловьева¹

¹ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова
dianasokol@bk.ru

В последнее время структура потребления продуктов питания претерпела изменения, во всем мире возрос интерес к ингредиентам и биологически активным добавкам, которые препятствуют развитию патологических процессов в организме человека, совмещают низкую токсичность, экологическую безопасность и высокую антиоксидантную активность. Производство пищевых продуктов в настоящее время не обходится без применения красителей, которые позволяют восстановить или повысить интенсивность окраски готового продукта. Основными источниками натурального красителя красного цвета бетанина (E-162) являются корнеплоды столовой свеклы (*Beta vulgaris* L.). В связи с этим в ВИР проводятся исследования по новому направлению селекции на повышенное содержание бетанина. Работа посвящена различным аспектам изучения коллекции столовой свеклы ВИР, выделению перспективных генотипов, маркерных признаков, изучению динамических особенностей аккумуляции пигмента в корнеплодах. Результаты показали, что биосинтез беталаиновых пигментов, к которым относится бетанин, у столовой свеклы является динамическим процессом, меняющимся в ходе онтогенеза и зависящим как от конкретного генотипа, так и от абиотических и эдафических факторов. Он прямо и косвенно связан со многими компонентами: выявлены тесные взаимосвязи беталаинов с конкретными первичными и вторичными метаболитами, приведены корреляции с антиоксидантной активностью. Отмечены ключевые компоненты беталаинового профиля у столовой свеклы с контрастной окраской корнеплодов, сопряженные с высокой антиоксидантной активностью, показаны динамические изменения фракционного состава беталаинов в течение вегетации. В докладе обсуждаются вопросы ускоренной селекции столовой свеклы. В результате проведенного скрининга аллельных различий ключевых генов биосинтеза беталаинов столовой свеклы выбраны гены, играющие ключевую роль в проявлении различий на уровне фенотипа, предложены гены-мишени для нокаута. Дальнейшее маркирование этих генов для ускорения маркер-ориентированной селекции или использование их в качестве мишеней для редактирования позволит ускорить процесс выведения сортов свеклы с повышенным содержанием бетанина.

Благодарности: работа выполнена при финансовой поддержке проекта российского научного фонда № 21-66-00012 «Создание с использованием генетических технологий и изучение новых линий растений, адаптированных к меняющимся условиям окружающей среды, обладающих повышенной продуктивностью и диетической ценностью».



Наследование массы зерна с колоса внутривидовыми и межвидовыми гибридами карталинской пшеницы в условиях Северного Зауралья

Г.В. Тоболова¹, В.И. Никитина²

¹ ФГБОУ ВО «Государственный аграрный университет Северного Зауралья»

² ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет»

tg60@mail.ru

УДК 633.11 (571.12)

Для расширения генетического разнообразия мягкой пшеницы необходимо вовлекать в селекцию другие виды пшеницы. Среди видового разнообразия рода *Triticum* L. карталинская пшеница *Triticum carthlicum* Nevski. (= *Triticum persicum* Vav.) выделяется устойчивостью к болезням, устойчивостью к прорастанию зерна, высоким содержанием белка (Н. И. Вавилов, 1924; П. М. Жуковский, 1923; М. М. Якубцинер, 1956; П. П. Наскидашвили, 2011 и др.).

Морфобиологический, анатомический анализ образцов карталинской пшеницы, гибридизация с мягкой и твердой пшеницей в условиях лесостепи Северного Зауралья проводились с 1992 по 2009 гг., биотехнологические исследования — с 2004 по 2022 гг. Завязываемость зерен при внутривидовых скрещиваниях составила от 2,6% (К-40307 × К-32510) до 17,1% (К-32510 × К-40307); в межвидовых скрещиваниях от 2,6% (К-40307 × К-58132) до 9,2% (К-11375 × К-36221).

Анализ гибридов поколения F_1 и F_2 по массе зерна с колоса показал, что они имели разный тип наследования данного признака. В F_1 комбинация К-40307 × К-36221 имела больший процент растений с полным, неполным доминированием родителя с меньшей величиной признака (66,6%), с депрессией — 20,0%. В F_2 в данной комбинации происходит выщепление форм со сверхдоминированием (12,0%), полным доминированием лучшей родительской формы (24,0%).

Интерес представляют гибридные комбинации, которые показали явление гетерозиса в обоих поколениях: К-40307 × К-32510; К-32510 × К-40307; К-32510 × К-36221. Особое внимание привлекает гибридная комбинация К-40307 × К-32510, у которой в F_2 увеличилось число растений со сверхдоминированием на 16% по сравнению с F_1 . и ее обратная комбинация К-32510 × К-40307 с гетерозисным эффектом — 52,0%. Полученные данные указывают, что можно проводить отбор в таких комбинациях по массе зерна с колоса в F_2 .

Другая картина выявлена при изучении типов наследования у межвидовых гибридов карталинской пшеницы с твердой. В поколении F_1 в большинстве комбинаций, где в качестве материнской формы брали карталинскую пшеницу, проявляется депрессия от 46,7 до 60,0% комбинаций (К-36221 × К-11375; К-32510 × К-11375; К-40307 × К-11375; К-40307 × К-58132).

Когда в качестве материнской формы использовали твердую пшеницу, наблюдали проявление сверхдоминирования 20,0% – 46,7% у комбинаций (К-58132 × К-36221; К-11375 × К-32510; К-11375 × К-36221), полного доминирования родительской формы с большей величиной признака от 13,3 до 35,7% (К-58132 × К-36221; К-11375 × К-36221).

В F_2 только одна гибридная комбинация (К-58132 × К-36221) представляет интерес для селекции, у которой, по сравнению с поколением F_1 , увеличился процент гетерозиса на 21,3%.

Нужно продолжать внутривидовую гибридизацию между выделенными образцами карталинской пшеницы по элементам структуры урожая, содержанию белка и клейковины, устойчивости к болезням и вредителям.



Селекция беспротоантоцианидиновых линий ячменя пивоваренного назначения для Западно-Сибирского региона

И.В. Тоцкий¹, О.Ю. Шоева¹

¹ Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Новосибирск, Россия
totsky@bionet.nsc.ru

Зерно ячменя содержит флавоноидные соединения проантоцианидины (ПА). Положительно влияя на адаптацию растений, они могут ухудшать качество сырья, используемого в производстве кормов и в пищевой промышленности. В связи с чем выведение беспротоантоцианидиновых сортов ячменя является актуальной задачей. Целью представленной работы является создание селекционных линий ячменя, не накапливающих ПА в зерне, адаптированных к условиям западносибирского региона.

В качестве исходных образцов были выбраны сорта Алей, Ворсинский 2 и Танай, возделываемые в Новосибирской области, а также беспротоантоцианидиновая линия *ant28.2131* (NGB13712, NordGen), несущая мутацию в гене R2R3-MYB, контролирующем синтез ПА в зерне ячменя [1]. С помощью селекционной схемы, включающей однократный беккросс с рекуррентным родителем и отбор с помощью CASP-маркера, разработанного к гену *Ant28* [2], в поколении BC₁F₂ были отобраны беспротоантоцианидиновые гибриды ячменя, дополнительно верифицированные с помощью качественного теста на ПА [3]. Семьи гибридов BC₁F₃ были протестированы в полевых условиях по ряду хозяйственно-ценных признаков: общая кустистость, продуктивная кустистость, высота растений, длина остей, длина главного колоса, плотность колосков в главном колосе, количество зёрен в главном колосе, масса зёрен главного колоса, количество зёрен в дополнительных колосьях, масса зёрен дополнительных колосьев, масса зёрен с растения. На основе полученных данных в каждой комбинации скрещивания были отобраны перспективные образцы растений для последующего их полевого тестирования и оценки качества зерна.

- [1] *Himi E. et al. Ant28 gene for proanthocyanidin synthesis encoding the R2R3 MYB domain protein (Hvmyb10) highly affects grain dormancy in barley. Euphytica. 2012;188(1): 141–151*
- [2] *Шоева О. Ю., Тоцкий И. В. Кукоева Т. В. ФГБНУ ФИЦ ИЦиГ СО РАН. CAPS-маркер для отбора гибридов ячменя, не накапливающих проантоцианидины в зерне. Патент на изобретение № 2804853. Заявка 2023100714; Заявлен 12.01.2023; Зарегистрирован 11.12.2023, Бюл. № 35.*
- [3] *Himi E., Taketa S. Barley Ant17, encoding flavanone 3-hydroxylase (F3H), is a promising target locus for attaining anthocyanin/proanthocyanidin-free plants without pleiotropic reduction of grain dormancy. Genome. 2015;58:43–53. DOI: 10.1139/gen-2014–0189.*

Работа выполнена в рамках проекта Минобрнауки России «Курчатовский центр геномных исследований мирового уровня» № 075-15-2019–1662.



Происхождение цитоплазматической мужской стерильности РЕТ1 у подсолнечника

А.В. Усатов¹, К.В. Азарин¹

¹ Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону
usatova@mail.ru

Подсолнечник (*Helianthus annuus*) — одна из важнейших сельскохозяйственных культур, широко распространенная по всему миру. Практически все коммерческие гибриды подсолнечника получают на основе материнских линий с цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС) типа РЕТ1, полученной в результате межвидовой гибридизации дикорастущих *H. petiolaris* и *H. annuus* (Horn et al., 2014). Молекулярной основой ЦМС-РЕТ1 является возникновение открытой рамки считывания (orfH522) в 3'-фланкирующей области митохондриального гена *atpA*. В связи с тем, что данный молекулярный дефект ранее не был обнаружен у дикорастущего подсолнечника, считали, что цитотип ЦМС-РЕТ1 мог возникнуть при межвидовой гибридизации, и специфичен исключительно для культурных форм (Azarin et al., 2023). В результате проведенного нами исследования получены новые данные о происхождении и распространении ЦМС-РЕТ1.

Материалом служили 28 линий дикорастущего подсолнечника (*H. annuus*) из коллекции Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова (ВИР).

Дополнительно были изучены геномные данные 614 образцов *H. annuus* и 475 образцов *H. petiolaris* из природных популяций.

В ходе исследования линий из коллекции ВИР впервые у дикорастущего подсолнечника в 3'-фланкирующей области митохондриального гена *atpA* выявлена открытая рамка считывания orfH522, ассоциированная с фенотипом ЦМС-РЕТ1. Анализ полногеномных данных 1089 образцов из природных популяций установил, что частота встречаемости orfH522 в популяциях *H. annuus* составляет 3,58%, в то время как в популяциях *H. petiolaris* — 1,26%. В целом, продемонстрировано, что ЦМС-РЕТ1 является естественным цитотипом *H. annuus*, а появление фенотипа ЦМС у культурного подсолнечника связано с потерей ядерных генов восстановителей фертильности, которая произошла при межвидовой гибридизации. Полученные данные полезны при вовлечении дикорастущих образцов *H. annuus* в гибридную селекцию подсолнечника.

[1] Azarin K., et al., 2023. Origin of CMS-PET1 cytotypе in cultivated sunflower: A new insight // Gene 888, 147801.

[2] Horn R., et al., 2014. Mitochondrion role in molecular basis of cytoplasmic male sterility // Mitochondrion 19, 198–205.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности № FENW-2023–0008.



Результаты и перспективы саратовской селекции яровой твердой пшеницы в аспекте увеличения функциональной ценности продуктов ее переработки

И.С. Цетва¹, С.Н. Гапонов¹, Г.И. Шутарева¹, Н.М. Цетва¹, И.В. Милованов¹, Е.С. Жиганова¹,
Н.С. Соловова¹, Н.А. Бурмистров¹

¹ ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока»

tse2van@yandex.ru

Твердая пшеница, и продукты, получаемые при ее переработке (макаронные изделия, крупы, кус-кус, булгур, фрике и др.), относятся к функциональным продуктам, способствующим нормальной физиологии человеческого организма. Основными преимуществами являются: низкий гликемический индекс, повышенное содержание клетчатки и каротиноидных пигментов.

Цели исследований: использование генетического материала, созданного в ФАНЦ Юго-Востока с привлечением образцов инорайонной селекции и коллекций ВИР для создания сортов с повышенным содержанием каротиноидов в зерне.

Исследования проводились на базе основного конкурсного испытания (ОКИ) в течение 2014–2023 гг. на пристанционных опытных полях. Условия вегетации за этот период охватывали весь спектр климатических условий Саратовской области (неблагоприятные ($ГТК \leq 0,5$) — 2019, средние — 2014, 2018, 2021, благоприятные ($ГТК \geq 0,9$) — 2017, 2020, 2023 г.).

По результатам проведенного исследования два сорта были внесены в Государственный реестр охраняемых селекционных достижений: Памяти Васильчука (2020 г.), Тамара (2022). Оба сорта по содержанию каротиноидных пигментов достоверно превосходят ряд ранее созданных сортов. Две перспективные линии D-2170 и D-2177 с максимальным содержанием каротиноидов проходят конкурсные испытания. В родословной селекционного материала с высоким индексом желтизны есть сорт Саратовская золотистая, который на протяжении тридцати лет являлся лидером по содержанию каротиноидных пигментов. Индекс желтизны муки, определяемый оптическими приборами (SPECOL-10, Minolta), тесно коррелирует с содержанием каротиноидов (химико-аналитический, с использованием н-бутанола).

В настоящее время ведется совместная работа специалистов лаборатории генетики и цитологии ФГБНУ ФАНЦ Юго-Востока, лаборатории генетики микроорганизмов Института биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (г. Саратов) по селекции тритордеума в гибридах с твердой пшеницей для повышения содержания каротиноидов. Тритордеум (*Tritordeum martinii* A.) — амфилоид, происходящий от обратного скрещивания дикого ячменя *Hordeum chilense* с твердой пшеницей, обладающий высокой физиологической ценностью.

Симпозиум 16: Регуляция действия гена и эпигенетика
Symposium 16: Regulation of Gene Expression and Epigenetics



Идентификация и характеристика генов инвертаз у чеснока и определение их роли в ответных реакциях на абиотические стрессы

О.К. Анисимова¹, М.А. Филюшин¹

¹ ФИЦ Биотехнологии РАН

lelikanis@yandex.ru

Ключевыми ферментами углеводного метаболизма растений являются инвертазы, катализирующие расщепление сахарозы на глюкозу и фруктозу. На основании сходства аминокислотных последовательностей и оптимального pH для работы инвертазы подразделяют на щелочные/нейтральные (N/AINV) и кислые, а последние, в зависимости от локализации, разделяют на инвертазы клеточной стенки (CWINV) и вакуолярные (VINV).

В геноме чеснока *Allium sativum* L. нами впервые были идентифицированы и детально охарактеризованы 23 гена инвертаз: 11 генов подсемейств N/AINV, 6 генов CWINV и 6 генов VINV. Определена экзон-интронная структура, варибельность кодирующих и регуляторных областей генов каждого подсемейства. В аминокислотных последовательностях было определено положение соответствующих гликозид-гидролазных доменов: Glyco_hydro_100 (для AsN/AINV) и Glyco_32 (для AsCWINV и AsVINV) и консервативных мотивов. Определены возможные 3D структуры белков. В промоторных областях каждого гена определены *cis*-регуляторные элементы. Анализ транскриптомных данных выявил тканеспецифичность экспрессии отдельных генов инвертаз. Максимальные уровни экспрессии большинства генов инвертаз наблюдаются в корнях, листьях и цветках. Показано, что в развитие луковиц вовлечены преимущественно инвертазы клеточной стенки CWINV.

Впервые была изучена роль инвертаз в ответе растений чеснока на абиотические стрессы (засоление, холод и засуха) и воздействие фитогормонов (ABA и MeJa); определена динамика содержания растворимых сахаров. В ответ на абиотические стрессы наблюдалось снижение уровней экспрессии для большинства генов инвертаз, при этом в корнях реакция была более выраженной, чем в проростках. В ответ на воздействие фитогормонов для ряда генов наблюдалась значительная активация или, наоборот, подавление экспрессии. Содержание сахарозы, глюкозы и фруктозы в корнях чеснока снижается в ответ на воздействие метилжасмоната и засухи, а при солевом стрессе и воздействии ABA содержание сахаров возрастает. Полученные результаты свидетельствуют об активном участии генов инвертаз в ответных реакциях растений чеснока на воздействие абиотических стрессов.

Работа была выполнена при поддержке гранта НЦМУ «Агротехнологии будущего» № 075-15-2022-318 от 20.04.2022.



Исследование свойств близкородственных архитектурных белков M1BP и Ranshi в геноме дрозофилы

Ю.В. Васильева¹, А.А. Федотова², И.О. Дериглазова¹, Н.С. Клименко¹, П.Г. Георгиев²,
О.Г. Максименко¹

¹ Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины, Институт биологии гена Российской академии наук, Москва

² Отдел регуляции генетических процессов, Институт биологии гена Российской академии наук, Москва
vasileva.yuv@phystech.edu

Большая часть известных архитектурных белков дрозофилы, включая Pita, Zw5 и M1BP, относятся к ZAD-C2H2 белкам, которые имеют на N-конце домен ZAD (zinc-finger-associated domain), а на C-конце — кластеры, состоящие из доменов цинковых пальцев C2H2- типа. ZAD-домены преимущественно формируют облигатные гомодимеры даже среди близких по происхождению ZAD-C2H2 белков. В общей сложности в геноме дрозофилы было найдено 98 генов, кодирующих ZAD-C2H2 белки, которые возникли в процессе эволюции в результате последовательных дупликаций. Целью настоящей работы стало исследование консервативного у всех дрозофилид белка M1BP (Motif 1 Binding Protein) и возникшего в процессе дупликации гена *m1bp* его паралога, белка Ranshi. Оба белка имеют на N-конце гомодимеризующиеся ZAD-домены, а на C-конце — кластеры, состоящие из пяти C2H2-доменов, обладающих ДНК-связывающей активностью. Ранее в S2-клетках было показано, что белок M1BP связывается с мотивом (T/C)GG(T/C)CACACTG, который находится в составе более чем 2000 промоторов генов. Нами была получена нуль-мутация по гену *m1bp*, в которой ген был заменен на attP- сайт. Было показано, что нуль-мутация *m1bp* приводит к гибели дрозофил на поздней эмбриональной стадии. Рядом с геном *m1bp* находится ген *ranshi*, инактивация которого (замена гена на attP-сайт) не обладает видимым фенотипическим проявлением. В эмбрионах дрозофилы было подтверждено связывание M1BP со своим мотивом рядом со стартами транскрипции генов. Ranshi связывался с мотивом (T/C)GG(T/C)CACTCTG, который отличается на один нуклеотид от мотива связывания для M1BP, примерно в 200 промоторах, практически не пересекающихся с M1BP-зависимыми промоторами. *In vitro* было определено, что за связывание с ДНК отвечают C2H2-домены 1–4, которые различаются у белков M1BP и Ranshi только по одному C2H2-домену. В неструктурированных линкерах белков M1BP и Ranshi были картированы участки взаимодействия с белками CP190, Z4 и Chromator, формирующими платформу для привлечения на промоторы комплексов, стимулирующих транскрипцию. Предварительные результаты предполагают, что специфичность связывания белков M1BP и Ranshi со своими сайтами преимущественно определяется частью неструктурированного линкера. В целом полученные результаты демонстрируют, что белок Ranshi приобрел способность связываться с новой группой промоторов в результате эволюции ZAD-домена, потерявшего способность димеризоваться с ZAD-доменом белка M1BP, изменением специфичности связывания кластера C2H2-доменов, и дивергенцией части неструктурированного линкера, который, вероятно, определяет специфичность связывания с белками-партнерами.

Поддержано грантом РФ (19-74-30026-П) и грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (075-15-2019-1661).



Эволюционные особенности структуры и экспрессия генов семейства *Nxf* (nuclear export factor) у животных

Е.В. Голубкова¹, К.В. Ахромов², А.О. Якимова³, А.В. Васильев¹, Д.И. Пелле¹, Д.Д. Бондарук¹,
Л.В. Барабанова¹, Л.А. Мамон¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9

² Санкт-Петербургский государственный университет; Петербургский институт ядерной физики
им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Россия, Гатчина

³ МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск
e.golubkova@spbu.ru

Один из уровней контроля экспрессии генов эукариот связан с транспортом РНК. Для транспорта белков и различных РНК в эукариотической клетке существуют специализированные системы. Так, экспорт зрелой мРНК из ядра в цитоплазму у представителей *Opisthokonta* осуществляет белок NXF1.

Ген *Nxf1* у животных является родоначальником семейства генов, включающего от 2 у нематод, 4 — у дрозофилы и до 6 у позвоночных генов-паралогов. Характерной особенностью гена *Nxf1* у животных является наличие транскрипта с сохранённым интроном. В сохранённом интроне присутствует преждевременный стоп кодон, что не мешает транскрипту гена *Nxf1* избежать механизма деградации мРНК с преждевременными стоп-кодонами (NMD, Nonsense Mediated mRNA Decay) и быть матрицей для синтеза короткой изоформы белка NXF1, функции которой пока не установлены. У млекопитающих гены-паралоги семейства *Nxf* (nuclear export factor) экспрессируются преимущественно либо в тканях мозга, либо одновременно и в мозге, и в семенниках. Продукты генов-паралогов локализуются, как правило, в цитоплазме, тогда как белок NXF1 обнаруживают в ядре или в районе ядерной оболочки. Преимущественная цитоплазматическая локализация белковых продуктов генов-паралогов данного семейства позволяет предположить, что эволюция этих генов в пределах генного семейства шла по пути спецификации мРНК-мишеней. У *D.melanogaster*, в отличие от млекопитающих, белок Dm NXF1 присутствует не только в ядре и ядерной оболочке, но и в цитоплазме специализированных клеток. При этом, нами впервые была показана его неслучайная локализация, а также наличие орган-специфичных транскриптов и белков, выполняющих, по-видимому, специализированные функции.

В пределах данного семейства у всех видов животных гомологичным является только ген *Nxf1*; другие гены (хотя и имеющие одинаковое название) у неродственных видов могут быть негомологичными. По-видимому, у млекопитающих отдельные тканеспецифичные функции разделены между разными генами-паралогами. В то же время, у *D.melanogaster* нет похожих генов-паралогов, но существуют орган-специфичные транскрипты гена *Nxf1*, синтезируемые с использованием альтернативных промоторов, сплайсинга и полиаденилирования. Учитывая структурные и функциональные особенности генов семейства *Nxf* в разных систематических группах, можно рассматривать это семейство как перспективную модель для изучения эволюции генных семейств в связи с особенностями экспрессии генов внутри семейства.

Работа выполнена при поддержке гранта СПбГУ (ID Pure 115624290).



Фактор сборки и ремоделирования хроматина *Chd1* является аттенуатором дозовой компенсации у дрозофилы

А.Ю. Конев¹, Я.А. Кучинская¹, А.Л. Манасян²

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, г. Гатчина

² Высшая школа экономики, Санкт Петербург

konev.alexander@gmail.com

Дозовая компенсации (ДК) обеспечивает равный уровень экспрессии генов X-хромосомы между полами у гетерогаметных организмов. У дрозофилы она достигается в результате увеличения экспрессии X-хромосомных генов у самцов примерно в два раза. Центральную роль в процессе ДК у *Drosophila melanogaster* играет комплекс дозовой компенсации MSL. Дозовая компенсация широко используется в качестве модельной системы для изучения фундаментальных механизмов генетической и эпигенетической регуляции транскрипции на уровне целой хромосомы.

У мутантов по гену *Chd1*, кодирующему фактор сборки и ремоделирования хроматина, X-хромосома самцов становится укороченной и утолщенной, четкость дискового рисунка снижается. Сверх-экспрессия *CHD1* приводит к появлению эктопических сайтов локализации комплекса ДК в аутосомах. Для прямого исследования влияния мутаций в гене *Chd1* на процесс дозовой компенсации мы проанализировали глобальную экспрессию генов в X-хромосоме и аутосомах у самцов и самок дрозофилы на личиночной стадии и в головах 4-дневных имаго с помощью РНК-секвенирования. У самок, мутантных по гену *Chd1*, экспрессия генов в X-хромосоме и аутосомах не различается. В то же время у самцов мы выявили достоверное увеличение транскрипции X-хромосомных генов по сравнению с аутосомными. Анализ уровня экспрессии длинных некодирующих РНК *roX1* и *roX2* с помощью ОТ-ПЦР на разных стадиях развития дрозофилы и в разных тканях подтвердил, что во всех случаях экспрессия *roX1* либо *roX2* РНК у мутантных самцов увеличена. Таким образом, *CHD1* дрозофилы непосредственно вовлечен в регуляцию дозовой компенсации, являясь аттенуатором, ограничивающим увеличение транскрипции X-хромосомных генов у самцов. Наши данные свидетельствуют, что достижение точного уровня экспрессии генов в процессе дозовой компенсации определяется взаимодействием как стимулирующих, так и ограничивающих экспрессию X-хромосомных генов факторов.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 1023031500033–1–1.6.7;1.6.4;1.6.8 Функциональная и структурная организация сложных, мультикомпонентных биологических систем и их динамика.).



Роль основных транскрипционных факторов в развитии «нерегулярных» меристем

Л. А. Лутова¹, И. Е. Додуева¹, М. А. Лебедева¹

¹ СПбГУ, Санкт-Петербург

la.lutova@gmail.com

Транскрипционные факторы (ТФ) с гомеодоменом играют важную роль в контроле развития высших эукариот, в частности — в построении плана тела, а также в ряде других процессов. У растений среди ТФ с гомеодоменом ключевыми регуляторами развития являются представители двух семейств: *WOX* и *KNOX*. ТФ *WOX* и *KNOX* известны, прежде всего, как регуляторы развития и поддержания активности меристем, кроме того, они также участвуют в контроле эмбриогенеза и других процессов развития. Объектом исследований нашей группы являются «нерегулярные» (факультативные) меристемы — т. е. меристемы, закладывающиеся при определенных условиях, развитие которых не является обязательным этапом онтогенеза растений. К ним относятся, например, меристемы симбиотических клубеньков, закладывающиеся в ходе взаимодействия растений с бактериями ризобиями, опухолеподобные структуры, развивающиеся при взаимодействии с фитопатогенами, а также вследствие нарушения работы генов-регуляторов пролиферации и дифференцировки клеток. В наших работах было показано, что развитие таких нерегулярных меристем контролируется с участием консервативных регуляторных модулей, включающих ТФ *WOX* и *KNOX*. Так мы показали, что в развитие симбиотических клубеньков у бобовых растений вовлечен ТФ *KNOX3*. Известно, что в меристеме побега ТФ *KNOX* активируют гены изопентинилтрансфераз (*IPT*), контролирующих биосинтез цитокинина. Как оказалось, в формирующихся клубеньках ТФ *KNOX3* также активирует экспрессию генов, ответственных за продукцию цитокинина, напрямую связываясь с регуляторными последовательностями генов *IPT* и *LOG*. Полученные нами данные подтверждают идею о существовании эволюционно консервативных регуляторных модулей, контролирующих различные программы развития растений. Также мы показали, что в развитии симбиотических клубеньков принимает участие ген *WOX5*, известный как регулятор развития корневых меристем. Кроме того, в ходе развития симбиотических клубеньков нами также была выявлена экспрессия еще одного гена *WOX* – *WOX2*. Его ближайший гомолог у арабидопсиса, ТФ *WOX2*, участвует в формировании апикального домена зародыша и закладке побеговой апикальной меристемы в ходе раннего эмбриогенеза. Таким образом, наряду с «корневым» регулятором, геном *WOX5*, регулятор «побеговой» программы, *WOX2*, также задействован в контроле развития симбиотических клубеньков. Гены *WOX* участвуют также и в регенерации тканей растений *in vitro*. Нами было показано, что у люцерны ген *MtWOX9-1* способен запускать соматический эмбриогенез у исходно неэмбриогенной линии. Также, согласно нашим данным, стимулировать развитие соматических эмбрионов способны гены *STENOFOLIA (WOX1)* и *WOX6-like*, тогда как ген *WOX2* стимулирует каллусообразование. В контроле развития аномальных меристемоподобных структур — спонтанных опухолей на корне инбредных линий редиса, по-видимому, принимает участие «корневой» регулятор *WOX5*, а также гены *WOX4* и *WOX14*, необходимые для развития камбия. В ходе поиска новых мишеней ТФ *WOX* нами была идентифицирована предполагаемая прямая мишень ТФ *WOX4* — ген *LOG3*, кодирующий фермент биосинтеза цитокининов. Таким образом, для формирования меристем разных типов растение использует возникшие в эволюции консервативные регуляторные механизмы.

Исследования проводятся при поддержке гранта Министерства образования РФ на создание научного центра мирового класса «Агротехнологии будущего» (соглашение № 075-15-2022-322 от 22.04.2022).



Вклад аллополиплоидии и хромосомных перестроек в экспрессию гомеологичных генов пшеницы

Е.А. Салина¹, А.Ф. Мутерко², А.А. Киселева¹, О.Г. Силкова²

¹ а) ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия;
б) Курчатовский геномный центр, Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия;

² ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск, Россия
salina@bionet.nsc.ru

Процессы формирования аллополиплоидных геномов пшеницы (*Triticum L.*) в ходе эволюции и селекции приводили к увеличению копии гомеологичных генов, экспрессия которых регулировалась в ряде случаев такими процессами, как метилирование или изменение активности генов за счет точечных мутаций, или инсерций/делеций в регуляторных районах. Существенно меньше информации о влиянии на экспрессию генов крупномасштабных перестроек в геноме, таких, как транслокации, инверсии или замещение хромосом, которые закрепляются в линиях и сортах сельскохозяйственных растений.

Проведен комплексный анализ ассоциированных с хромосомными перестройками (замещение хромосомы, инсерции/делеции и инверсии в отдельных участках хромосомы) изменениями в экспрессии генов у замещенной линии мягкой пшеницы сорта Чайниз Спринг (CS), в которой хромосома 5B замещена на хромосому 5Bdic от дикорастущего тетраплоидного вида *Triticum dicoccoides* (CS-5Bdic). В результате анализа перестроек хромосомы 5B посредством изучения мейоза у гибридов CS × CS-5Bdic и построения хромосомных карт, а также сравнением структуры 5B псевдомолекул *T. aestivum* and *T. dicoccoides*, были выявлены районы хромосом 5B и 5Bdic с высоким уровнем дивергенции (5BS_RS; 5BL_RS), для которых была отмечена супрессия рекомбинации при межвидовом скрещивании.

Проведено индивидуальное изучение экспрессии генов, идентифицированных на участках 5BS_RS и 5BL_RS. Выявлена супрессия генов в районе 5BL_RS, что, предположительно, связано с инверсией в этом районе.

Проведено сравнительное изучение экспрессии генов у CS и CS-5Bdic методом высокопроизводительного секвенирования транскриптома в трёх повторностях в листьях 21-дневных растений, выращенных в условиях короткого дня (9 ч) и отобранных в четырех экспериментальных точках (0, 3, 9, и 16 ч от начала светового периода). Показано, что чужеродная хромосома супрессирует транскрипцию в большей степени, чем активирует, перед рассветом (более чем в три раза), затем ее эпистатическое действие прогрессивно ослабевает с последующей активацией экспрессии генома (почти вдвое) к середине ночного периода. Замещение хромосомы 5B на 5Bdic приводит к изменению уровня представленности примерно 14% выявленных транскриптов генов, которые равномерно распределены по всему геному. Таким образом, при замещении одной хромосомы может происходить глобальный отклик всего генома, а не только тех генов, которые расположены на целевой хромосоме.

Данная работа выполнена при поддержке РНФ (проект № 21-76-30003).



Особенности паттерна экспрессии гена *swiss cheese/PNPLA6*

С. В. Саранцева¹, Е. В. Рябова¹, Е. А. Иванова¹, П. А. Мелентьев¹, А. Е. Комиссаров¹

¹ Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт»

svesar1@yandex.ru

Ген *PNPLA6* (patatin-like lysophospholipase domain containing 6) является эволюционно консервативным, его ортологи обнаружены у большого числа организмов: от дрожжей до человека. Кодируемый им белок принадлежит к семейству гидролаз, которые реагируют с различными субстратами, такими, как фосфолипиды, триацилглицериды и сложные эфиры ретинола. Данный фермент предпочтительно гидролизует фосфатидилхолин до глицерофосфатидилхолина и двух молекул жирных кислот, тем самым выполняя функции фосфолипазы В. Мутации в гене *PNPLA6* — приводят к различным заболеваниям, включая органофосфат-индуцированную отсроченную нейропатию (OPIDN); наследственную спастическую параплегию 39 типа; чистую мозжечковую атаксию и ряду синдромов, таких, как синдромы Гордона Холмса, Баучера-Нойхойзера и Оливера Макфарлейна.

Ортологом гена *PNPLA6* у *Drosophila melanogaster* является ген *swiss cheese* (*sws*), при нарушении работы которого наблюдается усиливающаяся с возрастом дегенерация нейронов и глиальных клеток в центральной и периферической нервных системах. Белки *sws* и *PNPLA6* обладают высокой структурной (39%) и функциональной гомологией.

Мы впервые описали полный паттерн экспрессии *sws* на разных стадиях онтогенеза дрозофилы. Показано, что экспрессия данного гена не является повсеместной, а ограничена определенными тканями и клетками организма (нервные и определенные типы глиальных клеток, слюнные железы, кишечник и жировое тело, мальпигиевые сосуды, соматические клетки цисты в семенниках). Транскриптомный анализ у особей с нарушенной функцией *sws* выявил изменения экспрессии генов, контролирующих метаболизм карбоновых кислот, липидов, аминокислот, углеводов, глутатиона, ксенобиотиков, флавоноидов, энергетический метаболизм, в том числе и биосинтез АТФ.

Полученные данные позволяют предполагать специфическую роль фосфолипазы *SWS/PNPLA6* в организме.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 1023031500037–7–1.6.8;1.6.1;1.6.2;1.6.3 *Изучение молекулярных и клеточных компонентов патогенеза социально-значимых заболеваний для разработки методов ранней диагностики и лечения*).



Механизм активации гена *XRP1* P53-зависимым энхансером 75C6 у *Drosophila melanogaster*

Ю.В. Шидловский¹, А.В. Конопатов², К.Ю. Конова², М.К. Попова², Л.А. Лебедева²

¹ Лаборатория регуляции экспрессии генов в развитии, Институт биологии гена РАН, Москва, Россия; Кафедра биологии и общей генетики, Сеченовский Университет, Москва, Россия

² Лаборатория регуляции экспрессии генов в развитии, Институт биологии гена РАН, Москва, Россия
yul.biogen@yandex.ru

Фактор транскрипции p53 является индуктором экспрессии проапоптотических генов в ответ на генотоксические воздействия. Мишенями p53 являются специфические участки ДНК, энхансеры (RE), которые контролируют транскрипцию генов-мишеней. У дрозофилы p53-зависимый энхансер в локусе 75C6 индуцирует ген *reaper* (*rpr*) и близлежащие гены при индукции повреждений ДНК в клетке ионизирующим излучением. Кроме того, *p53RE75C6* активирует ген *Xrp1*, расположенный более на расстоянии 20 Мпн на другом плече хромосомы. Мы изучаем молекулярный механизм, обеспечивающий дальнейшее действия указанного энхансера.

Вблизи энхансера и гена-мишени были найдены сайты связывания белков CTCF, GAF и других факторов, которые формируют трехмерную структуру хроматина. Для выяснения механизма взаимодействия гена и энхансера мы используем два подхода. В рамках первого подхода с помощью метода CRISPR/Cas9 проведен мутагенез области *p53RE* и изучено влияние делеций сайтов связывания GAF, CTCF на способность энхансера сближаться с геном-мишенью и его функциональную активность. В рамках второго подхода ген-мишень *Xrp1* был разделен на 6 фрагментов, каждый из которых был слит с GFP-репортером и встроен в геном. Получены трансгенные линии, в которых мы изучаем активацию репортера под действием ионизирующего излучения. Описанные подходы позволят идентифицировать функциональные сайты, обеспечивающие коммуникацию удаленных энхансера и промотора.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 20-14-00201.



Генетический контроль синтеза различных классов полифенольных соединений у ячменя (*Hordeum vulgare* L.): фундаментальные и прикладные аспекты

О.Ю. Шоева¹, К.А. Молобекова¹, М.О. Орбант¹, Н.А. Шмаков¹, А.А. Денисов¹, А.Ю. Глаголева¹,
Т.В. Кукоева¹, И.В. Тоцкий¹, Ш. Захрабекова², Д. Стюарт², М. Ханссон², Е.К. Хлесткина³

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

² Лундский университет, г. Лунд, Швеция

³ ФИЦ Всероссийский научно-исследовательский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, г. Санкт-Петербург, Россия

olesya_ter@bionet.nsc.ru

На качественные характеристики зерна ячменя существенное влияние оказывают полифенольные соединения, накапливающиеся в его оболочках, такие как антоцианы, проантоцианидины (конденсированные танины) и меланины. Каждая из перечисленных групп соединений имеет адаптивное значение для растений, а также определяет целевое использование растительного сырья и влияет на качество получаемой из него продукции. Антоцианы востребованы в качестве ингредиентов функциональных продуктов питания. Проантоцианидины отрицательно влияют на усвояемость микроэлементов и белков и вызывают коллоидное помутнение пива. Меланины, образующиеся при окислении фенольных соединений, придают неприглядный серый цвет продуктам питания, снижая их качество. Управление количественным и качественным составом перечисленных полифенольных соединений является актуальным направлением селекции, а гены, контролирующие их синтез, рассматриваются в качестве мишеней для метаболической инженерии новых форм ячменя с улучшенными свойствами. Однако для успешного решения задач по направленной модификации химического состава зерна, необходимо глубокое понимание молекулярно-генетических механизмов, лежащих в основе его формирования. В ходе выполнения представленной работы были определены молекулярные функции локусов *Ant1*, *Ant2*, *Ant5*, *Ant13*, *Ant25*, *Ant26* и *Ant27*, контролирующих синтез антоцианов и проантоцианидинов в вегетативных органах и в зерне ячменя, а также локуса *Vlp1*, контролирующего синтез меланина в зерне. Было изучено естественное и индуцированное с помощью мутагенеза аллельное разнообразие выявленных генов. С помощью доступных из генбанков, а также созданных в ходе работы почти-изогенных линий ячменя по изучаемым генам, были установлены особенности регуляции синтеза различных классов полифенольных соединений, а также влияние изучаемых генов на урожайность и качество зерна. Полученные результаты имеют важное фундаментальное и практическое значение, связанное с ускоренным и эффективным получением сельскохозяйственной продукции с заданными характеристиками.

Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ № 21-76-10024.

Симпозиум 17: Популяционная генетика
Symposium 17: Population Genetics



Dendrogenomics is a new interdisciplinary approach to study genetic mechanisms of adaptation and individual tree response to biotic and abiotic stresses: Siberian larch and Siberian stone pine cases

K. V. Krutovsky¹, S. V. Novikova², V. V. Sharov², N. V. Oreshkova², D. F. Zhirnova³, L. V. Belokopytova³

¹ *Department of Forest Genetics and Forest Tree Breeding, Georg-August University of Göttingen, 37077 Göttingen, Germany*

² *Laboratory of Genomic Research and Biotechnology, Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences”, Krasnoyarsk, Russia*

³ *Laboratory of Dendroecology and Ecological Monitoring, Khakass Technical Institute, Siberian Federal University, Abakan, Russia*

kkrutovsky@gmail.com

Dendrogenomics is a new interdisciplinary field of research that integrates dendrochronology, dendroecology, dendroclimatology, genetics and genomics [1]. This new approach allows joint analysis of dendrological and genomic data and opens up new ways to study the temporal dynamics of forest boundaries, determine the spatial and temporal structure of populations and, mostly important, study the individual response of trees to abiotic and biotic stresses and assess the adaptive genetic potential of forest populations. These data are essential and very much needed, especially for accurately predicting and mitigating the impacts of climate change. Using as example our study of Siberian larch and Siberian stone pine populations, recent data will be presented on associative analysis of the relationships between variations of individual dendrophenotypes that reflect the individual adaptive response of a tree to stress with variation of a large number of genetic markers identified by modern methods of genome sequencing, the so-called “genotyping-by-sequencing” (GBS), which made it possible to identify genomic regions and genes whose variation is associated with variation of important adaptive traits [2].

[1] Krutovsky K. V. 2022 Dendrogenomics is a new interdisciplinary field of research of the adaptive genetic potential of forest tree populations integrating dendrochronology, dendroecology, dendroclimatology and genomics // *Russian Journal of Genetics*. V. 58. No. 11. P. 1273–1286. <https://doi.org/10.1134/S1022795422110059>.

[2] Novikova S. V., Oreshkova N. V., Sharov V. V., Zhirnova D. F., Belokopytova L. V., Babushkina E. A., Krutovsky K. V. Study of the genetic adaptation mechanisms of Siberian larch (*Larix sibirica* Ledeb.) regarding climatic stresses based on dendrogenomic analysis // *Forests*. 2023. V. 14. No. 12. 2358. <https://doi.org/10.3390/f14122358>.

The study was supported by the Russian Science Foundation grant 22-14-00083.



Генетическое разнообразие ценного реликта Сибири — сибирского осетра *A. baerii* Brandt, 1869

А.Е. Барминцева¹, В.Д. Щербакова¹, Н.С. Мюге¹

¹ ФГБНУ «ВНИРО»

bae69@mail.ru

Сибирский осетр *A. baerii* является одним из немногих представителей осетровых, ведущий полностью пресноводный образ жизни, широко распространен во всех крупных реках Сибири от Оби до Колымы, а также в оз. Байкал, однако на сегодняшний день все популяции, исключая ленскую, занесены в Красную книгу в связи с катастрофическим снижением численности. Сибирский осетр является самым востребованным видом среди осетровых в товарной аквакультуре как в России, так и в мире.

Для анализа генетического полиморфизма пяти наиболее многочисленных природных популяций сибирского осетра были исследованы особи из бассейнов рек Обь (и приток Оби р. Иртыш), Енисей, Лена, Колыма и озера Байкал.

Нами исследованы последовательности контрольного региона мтДНК длиной 685 п. н. у 5734 особей. Всего на сегодняшний момент у сибирского осетра из 5 популяций выявлено 106 различных митохондриальных гаплотипов, из которых 14 являются общими для разных популяций (представлены в двух — пяти популяциях), остальные представлены только в одной.

В Обь-Иртышской популяции выявлено 49 гаплотипов (39 уникальных и 10 общих с другими популяциями). Енисейская популяция характеризуется 26 гаплотипами — 15 уникальных, а также представлена в 11-х общих гаплотипах. Ленская популяция характеризуется 38 гаплотипами, из них 28 уникальных, а также имеет долю в 10-и общих гаплотипах. Колымская популяция представлена только двумя гаплотипами, и оба являются общими для других популяций. В байкальской популяции выявлено 15 мт гаплотипов, из которых 9 уникальны для данной популяции. Также байкальские гаплотипы представлены во всех семи гаплотипах, являющихся общими в 3-х и более популяциях сибирского осетра, что позволяет предположить историческую связь современной популяции озера Байкал со всеми исследованными нами популяциями. Несмотря на то, что систематика сибирского осетра относит популяции оз. Байкал и р. Енисей к разным подвидам (байкальский и узкорылый осетры), нам не удалось выявить достоверных генетических различий между этой парой популяций. Это может объясняться существовавшим потоком генов, обусловленным возможностью до постройки Братской ГЭС миграцией осетров из оз. Байкал вниз по р. Ангаре до р. Енисей.

Остальные популяции сибирского осетра представлены генетически хорошо различающимися группировками, соответствующими гидрографическим бассейнам.



Молекулярно-генетическая идентификация популяций хвойных растений: проблемы, подходы, перспективы

С.В. Боронникова¹, Я.В. Сбоева¹, Н.В. Чертов¹, Н.В. Жуланов¹

¹ ФГАОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»

svboronnikova@yandex.ru

Хвойные растения составляют основу экосистем бореальных лесов и имеют большое экономическое значение. К проблемам идентификации можно отнести определение границ популяций хвойных древесных растений, выбор типов молекулярных маркеров, создание технологии идентификации хвойных растений, растущих на больших площадях; достижение высокого процента совпадений при апробации тест-системы идентификации на огромной территории РФ, а также применимость для нужд МВД. Для идентификации популяций хвойных используется дендрохронологический анализ, данные генетического разнообразия популяций, выявленные с использованием различных типов маркеров (AFLP, SSR, ISSR, SNP). Геномы хвойных имеют большие размеры, при идентификации чаще используются SNP-маркеры ядерного генома, но привлекаются данные о полиморфизме маркеров митохондриального и хлоропластного геномов. Объектами изучения являлись популяции *Pinus sylvestris* L. и *Picea obovata* Ledeb. на Урале и на прилегающих территориях, где находится зона интрогрессии видов *P. abies* и *P. obovata*; поэтому переходные формы обозначаются комплексом *P. abies*-*P. obovata*. Для идентификации популяций разработан оригинальный подход с использованием 2 типов генетических маркеров, защищенный патентом на изобретение РФ № 2505956 от 10.02.2014. Идентификационные маркеры представлены в виде молекулярно-генетических формул, штрихкодов и внесены в генетические паспорта популяций. Получен патент на изобретение РФ № 2760522 от 26.11.2021 «Способ молекулярно-генетической идентификации неизвестного образца древесины хвойных растений». Созданы база данных и карта идентификационных маркеров для 2 видов хвойных растений. Молекулярно-генетическая идентификация хвойных растений на популяционном уровне важна для сохранения генетических ресурсов, для определения географического происхождения древесины с целью контроля ее незаконной заготовки; выявления происхождения и оценка адаптивного потенциала на основании полиморфизма адаптивно-значимых генов репродуктивного материала (семян, сеянцев) для восстановления лесов в местах интенсивной заготовки древесины, в том числе на Урале и на прилегающих территориях.

Исследование частично выполнено при финансовой поддержке Правительства Пермского края в рамках научного проекта № С-27/776 от 31.03.2022.



Генетическая структура популяций волка, *Canis lupus* L. 1758, Северной Евразии: выявление родственных особей и как их исключение влияет на результаты микросателлитного анализа

П. А. Казимиров¹, Ю. С. Белоконов¹, М. М. Белоконов¹, А. Я. Бондарев², А. В. Давыдов³, Е. С. Захаров⁴,
С. В. Леонтьев⁵, Д. В. Политов¹

¹ Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Москва

² Алтайский государственный аграрный университет, Барнаул

³ Федеральный научно-исследовательский центр развития охотничьего хозяйства, Москва

⁴ Институт естественных наук Северо-Восточного федерального университета им. М. К. Аммосова, Якутск

⁵ ТОО «Национальный центр биотехнологии», Астана, Казахстан

farenklaw@gmail.com

Волк (*Canis lupus* L., 1758) — крупный хищник с выраженным территориальным поведением и семейной структурой популяций. При проведении популяционно-генетических исследований вида могут возникнуть трудности с интерпретацией результатов, так как отбор проб на небольшом расстоянии друг от друга значительно повышает вероятность того, что они будут принадлежать к близкородственным особям, относящимся к одной стае. При этом можно предполагать, что близкородственные особи могут встречаться и на существенных дистанциях вследствие активного расселения при natalной миграции на расстояния до нескольких сотен км. Мы провели анализ 878 образцов волка с территории России и Казахстана по 20 аутосомным микросателлитным локусам, при этом очевидно родственные особи (добытые одновременно семейные группы) изначально исключались из анализа. Анализ автокорреляций показал, что влияние семейной и территориальной структуры наиболее выражено на расстояниях до 125–150 км, прослеживается в меньшей степени на расстояниях ~150–500 км, а в диапазоне 500–1600 км постепенно сходит на нет, хотя всё ещё остаётся достоверно положительным. При исключении близкородственных особей, добытых на расстояниях менее 100 км, наблюдались значительные изменения в результатах популяционно-генетического анализа. Так, при кластеризации многолокусных генотипов в программе STRUCTURE наблюдался большой консенсус между повторами для одного значения числа кластеров (K). Для K = 6 при исключении родственных генотипов наблюдалось объединение популяций Волго-Вятского района и некоторых приуральских и западносибирских популяций в самостоятельный кластер, отдельный от популяций севера и северо-запада европейской части России. При использовании обоих наборов генотипов при K=6 наблюдалось выделение в отдельные кластеры популяций Предкавказья, Восточной Сибири и Чукотки. Результаты нашего исследования позволяют заключить, что выявление в различной мере родственных многолокусных генотипов на больших массивах данных по полиаллельным молекулярным маркерам (микросателлитам) может маркировать паттерны natalной миграции у волка, её дистанцию и, при наличии сопутствующей информации, направление. Таким образом, популяционно-генетические исследования являются хорошей альтернативой и/или дополнением трекингу миграций с помощью GSM и спутниковых логгеров.

Работа выполнена за счёт проекта РНФ № 23-24-00635.



Генетическая структура нативных и интродуцированных популяций соболя (*Martes zibellina* L.) центральной части ареала

С. Н. Каштанов¹, А. А. Онохов¹, Ц. Вэй², П. А. Филимонов¹

¹ Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова Российской академии наук, Москва, 119991, Россия

² Московский физико-технический институт, Московская область, 141701, Россия

snkashtanov@mail.ru

На ареале соболя от Урала до Дальнего востока обитают географические популяции, значительно дифференцированные по ряду морфологических признаков. Таксономическая структура вида на значительной части ареала связана с многочисленными интродукционными мероприятиями середины XX века. Последствия влияния этих работ оценивали с применением 16 STR маркеров. Установлено существование четырех нативных популяций: плато Путорана, верховий реки Оленек, Станового и Патомского нагорий, значимо дифференцированных между собой. В период депрессии численности вида здесь сохранились остаточные очаги обитания соболя, некоторые из которых стали донорами для проведения реинтродукций. Популяции Байкальской горной страны, представляющие южную часть ареала соболя, использовались для восстановления численности на территориях, где соболь был полностью истреблен. Современная инвазивная популяция Западно-Сибирской равнины, где соболь успешно адаптировался в новых условиях среды, сохранила значительную часть аллельного состава популяций-доноров. Соболь восточной части исследуемого ареала, междуречья рек Алдан и Майя, также не дифференцируется от популяции-донора, что позволяет предположить существование здесь единой широко распространенной популяции, сформированной на базе генофонда соболя Патомского нагорья. Таким образом, эффективность восстановления соболя Западной Сибири и правобережья среднего течения реки Лена с помощью интродукций из районов Байкальской горной страны в середине XX века подтверждена анализом современной генетической структуры.

Полученные результаты позволяют оценить современный уровень генетического разнообразия и особенности генетической структуры промысловых популяций соболя Среднесибирского плоскогорья, что может послужить основой при разработке стратегий природопользования и охраны географических популяций соболя исследуемых регионов.

Исследования проведены с использованием средств гранта РНФ 23-26-00233.



Генетическая структура популяций коренного и пришлого населения Сибири по данным о полиморфизме генов транспорта и рецепции витамина D

М.Б. Лавряшина¹, Б.А. Тхоренко¹, М.В. Ульянова¹, Д.О. Имекина¹, А.Д. Падюкова¹, Ф.А. Лузина²

¹ ФГБОУ ВО Кемеровский Государственный Медицинский Университет Минздрава России

² ФГБНУ Научно-исследовательский институт комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний
lmb2001@mail.ru

Биологическая эффективность витамина D зависит от климатогеографических особенностей и модифицируется полиморфизмом генов метаболизма, транспорта и рецепции данного витамина. В силу географического положения региона для населения Сибири характерен недостаток витамина D, что позволяет предположить наличие специфической популяционно-генетической структуры, так как в ходе приспособления к условиям среды в генофондах популяций могли закрепляться адаптивные генные комплексы, обеспечивающие компенсаторные механизмы, оптимизирующие функционирование витамина.

Для проверки данной гипотезы проведено исследование частот полиморфных вариантов генов транспорта (GC: rs7041, rs4588, rs3755967) и рецепции (VDR: rs1544410, rs3847987, rs7968585, rs2228570, rs7975232, rs731236; RXRA: rs9409929, rs3132299, rs877954; RXRG:

rs2651860, rs283696, rs10918169) витамина D в выборках коренного (телеуты, сибирские татары, шорцы) и пришлого (русские) населения (n = 461 чел.). Первичные результаты генотипирования подвергнуты стандартной процедуре анализа с использованием программ Statistica и SNPStats. Рассчитаны генотипические, аллельные, гаплотипические частоты, показатели генетического разнообразия популяций, равновесие Харди-Вайнберга (HWE).

Выявлено определенное сходство генофондов коренного населения. Выборка русских оказалась дистанцированной. Анализ аллельных частот продемонстрировал специфику генетической структуры популяций: у шорцев отмечена повышена частота A rs2228570, кодирующего укороченную форму рецептора витамина D (VDR), у телеутов и шорцев снижена частота A rs4588 гена группспецифического компонента (GC), сопровождающегося синтезом белка Gc2-2 со сниженной способностью связывать витамин D и другие особенности. Своеобразие генофондов также подтверждено и на уровне частот гаплотипов — по гену GC наиболее частым во всех выборках был гаплотип GC*CGC (в выборке русских более 56%, а в группах коренных народов — около 30%) и так далее.

Таким образом, проведенным исследованием выявлена специфическая структура генофондов коренного и пришлого населения региона, подтвержденная анализом отдельных полиморфных вариантов и их гаплотипов в составе отдельных генов. Составление «генетических портретов» популяций, характеризующих особенности молекулярно- биологического профиля, актуально для решения вопросов фармакогенетики, нутригеномики, эпидемиологии и ряда других направлений.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Материал подготовлен за счет средств гранта Российского научного фонда № 22-25-20209, <https://rscf.ru/project/22-25-20209> и Министерства науки и высшего образования Кузбасса.



Равный вклад самцов и самок в формирование генетической изменчивости и дифференциации серого журавля

Е.А. Мудрик^{1 2}, Е.И. Ильяшенко^{1 3}, К.Д. Кондракова^{1 3}, Ю.М. Маркин⁴, К.А. Постельных⁴,
А.В. Шатохина¹, П.А. Казимиров^{1 2}, Д.В. Политов^{1 2}

¹ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

² Всероссийский научно-исследовательский институт охраны окружающей среды, Москва

³ Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва

⁴ Окский государственный природный биосферный заповедник, Рязанская обл., Брыкин Бор

mudrik@vigg.ru

Серый журавль (*Grus grus*) — широкоареальный мигрирующий вид, использующий несколько мест зимовок и, соответственно, разные миграционные маршруты. Размножающиеся пары характеризуются выраженной гнездовой филопатрией, в то время как молодым птицам до достижения половой зрелости и формирования пары в течении 3–4 лет после рождения свойственна дисперсность. При этом сведения о natalной филопатрии и дисперсии серого журавля в отношении особей разного пола весьма ограничены. С использованием семи высокоизменчивых микросателлитных локусов (*Lia3745*, *Lia60455*, *Lia62171*, *Lia47103*, *Lia20751*, *Lia4342*, *Lia11091*) и фрагмента митохондриальной ДНК размером около 2000 п. н. (контрольный регион, *cytb*) мы исследовали популяционно-генетическую структуру и вклад особей разного пола в распределение генетического разнообразия западного (*G. g. grus*) и восточного (*G. g. lilfordi*) подвидов. В работе использовали биологические образцы 100 особей из западной (Московская, Рязанская, Ростовская, Ульяновская обл. и Республика Татарстан) и 30 особей из восточной (Тюменская, Новосибирская обл. и Красноярский край) частей ареала. Молекулярно-генетическое определение пола с использованием маркера EE0.6 выявило 57 самцов и 43 самки в выборке *G. g. grus* и 17 самцов и 13 самок в выборке *G. g. lilfordi*. Итого в анализе было задействовано 74 самца и 56 самок. Как по ядерным, так и митохондриальным маркерам мы получили высокие значения показателей генетического и гаплотипического разнообразия, сходные в выборках обоих подвидов серого журавля, а также близкие к среднепопуляционным значения этих параметров в выборках самцов и самок каждого подвида. Показатели уровней генетической дифференциации между самцами, самками и выборками из обоих полов у каждого подвида были также низкими. С использованием алгоритма Байесовской кластеризации не выявлено четкой структуризации вида по многолокусным микросателлитным генотипам. На филогенетическом дереве гаплотипов митохондриальной ДНК также не выявлено кластеров, соответствующих географическим группировкам, что свидетельствует о гомогенности генофонда этого вида на изучаемой территории. Восточный подвид демонстрирует более низкое аллельное и гаплотипическое разнообразие по сравнению с западным подвидом, на основании чего можно сделать предположение о его происхождении от восточных маргинальных популяций номинативного западного подвида. По митохондриальной ДНК выявлены меньшие значения показателя миграционного потока, чем по микросателлитным локусам, что объясняется нерекомбинантным типом ее наследования, осуществляемого только по материнской линии. Генетическая подразделенность среди самцов двух подвидов сопоставимы с таковыми среди самок. Полученные результаты свидетельствуют в пользу равного вклада обоих полов в формирование генетической изменчивости и дифференциации серого журавля в восточной и западной областях гнездовой части ареала в России.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-00613, <https://rscf.ru/project/23-24-00613/>.



Молекулярные подходы в природоохранной генетике – как анализ ДНК помогает сохранять генетическое разнообразие

Д.В. Политов^{1 2}, Е.А. Мудрик^{1 2}, П.А. Казимиров^{1 2}, Р.Г. Новикова¹

¹ ФГБУ Всероссийский научно-исследовательский институт охраны окружающей среды, Москва

² Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН

d.politov@vniiecolology.ru

Обеднение и эрозия видовых генофондов является одной из главных опасностей для стабильного функционирования экосистем и биосферы в целом. Молекулярно-генетические технологии, основанные на ДНК-анализе, давно зарекомендовали себя как эффективные ключевые методы разрешения разнообразных спорных вопросов биологии и охраны окружающей среды. Непосредственное выявление наследственной компоненты биологического разнообразия с помощью ДНК-анализа критически важно для генетической идентификации видов и таксонов более высокого ранга, популяций, отдельных особей, межвидовых гибридов, реконструкции родственных генеалогических связей (семейной структуры), филогенетических (эволюционных) взаимоотношений организмов, оценки состояния популяции (уровни внутри- и межпопуляционного генетического разнообразия, степень инбридинга). Однако, несмотря на развитие фундаментальных исследований в данной области, внедрение их результатов в практику охраны окружающей среды на территории Российской Федерации существенно отстает.

В докладе будет представлена общая концепция природоохранной генетики, уделено внимание особенностям и трудностям её практической реализации в РФ, конкретным примерам применения генетических и геномных подходов для охраны, поддержания и восстановления генофонда редких и ценных видов животных Российской Федерации, которые координирует или в которых участвует ВНИИ Экология. К таким проектам относятся охрана генофондов, размножение *ex situ* и контроль экспорта крупных соколов других хищных птиц, мониторинг и реинтродукция стерха и других редких и охраняемых видов журавлей, оценка статуса популяционной группировки сайгака Западного Прикаспия, охрана генофондов белого медведя и других морских млекопитающих. Специальное внимание уделено вопросам, раскрывающим правовые аспекты природоохранной генетики, в частности в отношении идентификации, паспортизации и редких и охраняемых видов животных, в том числе для проведения молекулярно-генетической экспертизы по незаконной добыче и обороту объектов животного мира.



Изучение генетической изменчивости дальневосточного трепанга *Apostichopus japonicus* залива Петра Великого (Японское море)

В.Д. Ягодина¹, В.А. Брыков¹

¹ «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» Дальневосточного отделения Российской академии наук

iagodinavd@gmail.com

Дальневосточный трепанг *Apostichopus japonicus* — важный промысловый вид в Северо-Восточной Азии. Терапевтические свойства и лечебные преимущества могут быть связаны с наличием широкого спектра биоактивных веществ (Bordbar et al., 2011), с питательной точки зрения *A. japonicus* содержит различные биологически активные компоненты (Oh et al., 2017). Ценность дальневосточного трепанга привела к интенсификации его промысла, что в итоге сказалось на сокращении численности популяций в местах его обитания.

В связи с сокращением численности вида, как правило, уменьшается его генетическое разнообразие, что может приводить к снижению выживаемости. В настоящее время ведутся исследования по изучению запасов *A. japonicus* как промыслового объекта и восстановлению его численности, в том числе при помощи искусственного выращивания в условиях марикультуры (Yan et al., 2013). Однако для рационального природопользования видов (изъятия и воспроизводства) необходимо установление их популяционно-генетической структуры (Janes et al., 2017). С этой целью для получения полной картины изменчивости генетического разнообразия и структуры популяции на части ареала *A. japonicus* был проведен анализ как митохондриальной ДНК, так и микросателлитных локусов ядерной ДНК.

В работе впервые получены данные по генетическому разнообразию и популяционной структуре *A. japonicus* в заливе Петра Великого Японского моря. В результате исследования изменчивости мтДНК *A. japonicus* обнаружена генеалогическая подразделенность гаплотипов. По итогам работы с микросателлитными локусами ядерной ДНК выявлена гетерогенность выборок дальневосточного трепанга.

1. Bordbar S., Anwar F., Saari N. High-value components and bioactives from sea cucumbers for functional foods—a review // *Marine Drugs*. 2011. Vol. 9. P. 1761–1805.
2. Oh G.-W., Ko S.-C., Lee D. H. et al. Biological activities and biomedical potential of sea cucumber (*Stichopus japonicus*): a review // *Fisheries and Aquatic Science*. 2017. Vol. 20. Article no. 28.
3. Yan J., Jing J., Mu X. et al. A genetic linkage map of the sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) based on microsatellites and SNPs // *Aquaculture*. 2013. Vol. 404–405. P. 1–7.
4. Janes J. K., Miller J. M., Dupuis J. R. et al. The K = 2 conundrum // *Molecular Ecology*. 2017. Vol. 26, № 14. P. 3594–3602.

Симпозиум 19: Генетика старения, поведения и нейрогенетика
Symposium 19: Genetics of Ageing, Behavior and Neurogenetics



Downregulation of ribosomal protein genes is revealed in a model of rat hippocampal neuronal culture activation with GABA(A) receptor antagonist picrotoxin

P. Fortygina¹, A. Beletskiy¹, A. Zolotar¹, E. Chesnokova¹, L. Uroshlev¹, P. Balaban¹, P. Kolosov^{1 2}

¹ Institute of higher nervous activity and neurophysiology of RAS, Moscow

² Engelhardt Institute of Molecular Biology of RAS, Moscow

fortyginapolina@mail.ru

Normal neuronal function requires precise spatial and temporal regulation of RNA synthesis: the transcription intensity and translation status of the mRNA pool can vary depending on subcellular localization, neuronal activation, extracellular conditions, and many other factors [1, 2]. The aim of this study was to estimate whether the number of reads obtained by long-read sequencing using the Oxford Nanopore Technologies MinION platform is sufficient to characterize transcriptome changes in primary cultures of rat hippocampal neurons (DIV15) as a result of their activation by the application of picrotoxin (PTX) for 30 min, 1 and 5 hours. As well as identifying alternative splicing events.

Overall, we found 23652 novel transcripts in comparison to reference annotations, out of which ~6000 were entirely novel and mostly transposon-derived loci. Analysis of differentially expressed genes showed that 3046 genes were differentially expressed, of which 2037 were upregulated and 1009 were downregulated at 30 min after the PTX application, with only 446 and 13 genes differentially expressed at 1 h and 5 h time points respectively. Gene Ontology and KEGG-pathway analyses revealed that both up- and down-regulated genes were directly related to protein metabolism. Most notably, genes associated with protein transport and localization were upregulated while multiple genes encoding ribosomal proteins, with high basal expression level, were downregulated after 30 min incubation with PTX; we suggest that this indicates redistribution of transcriptional resources towards activity-induced genes. For Rpl15 and Rps8 ribosome-associated proteins, significant downregulation in neuronal cultures exposed to PTX for 30 min was confirmed with dPCR. We also noticed downregulation of genes related to ATP metabolism, mostly represented by mitochondrial genes highly expressed at baseline. Endocytosis pathway genes underwent massive expression level changes as well, with most genes in the pathway being upregulated. PTX incubation for 30 minutes does not cause notable increase in alternative splicing. Unexpectedly, we only detected minor changes at all experimental points (16, 16 and 4 affected isoforms in 30 min, 60 min and 5 hours respectively) by DTU analysis. However, there was a noticeable transcript switching for *Gabrb1* gene. This gene encodes GABAR subunit $\beta 1$, and GABAR is a direct target of PTX.

Novel loci and isoforms observed in this study may help to further understand the functional mRNA repertoire in neuronal plasticity processes; while GO annotated gene clusters may shed light on a more precise understanding of the molecular mechanisms underlying the lack of inhibitory signals from interneurons caused by GABA receptors blockade during the physiological activity.

1. Cho, J.; Yu, N.-K.; Choi, J.-H.; Sim, S.-E.; Kang, S. J.; Kwak, C.; Lee, S.-W.; Kim, J.-I.; Choi, D. I.; Kim, V. N., et al. 2015 Multiple repressive mechanisms in the hippocampus during memory formation // *Science* (New York, N.-Y.) 350, 82–87,
2. Chesnokova, E. A.; Kolosov, P. M. 2017 Local Protein Synthesis in Dendritic Terminals and Its Regulation in Normal Conditions and during Plastic Changes // *Neuroscience and Behavioral Physiology* 47, 595–607.

This work was funded by the Russian Science Foundation, agreement №23-14-00331.



Эффекты сверхэкспрессии гена 5-HT7 рецептора в среднем мозге на поведение и нейропластичность у мышей при длительном потреблении этанола

Д.В. Базовкина¹, А.С. Орешко¹, А.Я. Родный¹, В.С. Науменко¹

¹ ФИЦ ИЦИГ СО РАН, Новосибирск

daryabazovkina@gmail.com

Нейротрофический фактор мозга BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor) и серотониновая (5-HT) нейромедиаторная система участвуют в регуляции нейропластичности. Дефицит функциональной активности 5-HT системы и BDNF лежат в патогенезе расстройств поведения, в том числе связанных с долговременным потреблением алкоголя. 5-HT7 рецептор привлекает особый интерес, поскольку он вовлечен в ауторегуляцию 5-HT системы мозга, а также в развитие психопатологий, таких, как тревожность и депрессия.

Целью работы было исследование эффекта введения в средний мозг мышей линии C57BL/6 вирусного конструкта «SynH1-2_HTR7-EGFP», вызывающего сверхэкспрессию гена 5-HT7 рецептора, на поведение, серотониновую систему мозга и экспрессию BDNF в структурах мозга при хронической алкоголизации. В течение 6 недель после введения конструкта животные потребляли 10% этанол (контрольные мыши пили воду). Двигательную активность оценивали в тесте «открытое поле», тревожность — в тесте «темно-светлая камера», депрессивноподобное поведение — в тесте «принудительное плавание». Уровни мРНК генов определяли ОТ-ПЦР реального времени, содержание белков — методом Western blot. Уровни серотонина и его метаболита 5-ГИУК измеряли с помощью ВЭЖХ. Результаты обрабатывали двухфакторным дисперсионным анализом с последующим множественным сравнением по Фишеру.

Двигательная активность в тесте «открытое поле» была сопоставима между группами животных. Введение конструкта с геном 5-HT7 рецептора привело к повышению уровня тревожного поведения в тесте «темно-светлая камера» у мышей, получавших как воду ($p < 0.05$), так и этанол ($p < 0.05$). У мышей, которым был введен конструкт с целевым геном, было показано значительное увеличение уровня мРНК гена 5-HT7 рецептора только в среднем мозге ($p < 0.001$). Экспрессия гена 5-HT1A рецептора снизилась во фронтальной коре, гиппокампе ($p < 0.001$) и выросла в среднем мозге ($p < 0.05$) в результате действия длительной алкоголизации. Введение вирусного конструкта снизило уровень мРНК гена 5-HT1A рецептора в гиппокампе только у мышей, получавших воду ($p < 0.001$). Алкоголизация привела к повышению индекса метаболизма 5-HT в гиппокампе и среднем мозге ($p < 0.001$), введение вирусного конструкта с геном 5-HT7 рецептора привело к росту этого показателя для среднего мозга только у мышей, получавших воду ($p < 0.05$). Сверхэкспрессия гена 5-HT7 рецептора обусловила снижение уровня мРНК гена *Bdnf* во фронтальной коре мышей, получавших этанол ($p < 0.05$). Только у животных, получавших воду, введение конструкта привело к увеличению концентрации белка proBDNF в среднем мозге ($p < 0.01$), фронтальной коре ($p < 0.05$) и гиппокампе ($p < 0.01$), а также повышению содержания белка BDNF во фронтальной коре ($p < 0.05$).

Таким образом, введение конструкта с геном 5-HT7 рецептора в средний мозг усилило показатели тревожного поведения у мышей вне зависимости от потребления этанола. В то же время длительная алкоголизация ослабила эффекты сверхэкспрессии гена 5-HT7 рецептора на 5-HT нейромедиаторную систему и содержание белков proBDNF и BDNF в структурах мозга.

Работа поддержана грантом РФФ № 22-15-00011.



Генетический контроль обучения и памяти у *Drosophila melanogaster*

Ю.В. Брагина¹, А.А. Гончарова¹, Н.Г. Беседина¹, Л.В. Даниленкова¹, Е.А. Камышева¹, Н.Г. Камышев¹

¹ Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург

julia_bragina@infran.ru

Дрозофила является традиционным модельным объектом для изучения молекулярно-генетических механизмов когнитивных возможностей организма. В настоящее время показана роль отдельных молекул и сигнальных каскадов в реализации процессов обучения и формирования памяти, однако поиск новых генетических компонентов по-прежнему остается актуальным.

Для поиска новых генов дрозофилы, продукты которых играют роль в процессах обучения и памяти, мы провели скрининг коллекции PdL-инсерционных аутосомных мутантов (около 100 линий с известной локализацией инсерции). Было выделено более десяти новых генов-кандидатов, мутации в которых приводят к нарушению способности к обучению и/или формированию памяти в парадигме условнорефлекторного подавления ухаживания. Функция трех выделенных генов оказалась связана с регуляцией состояния хроматина, что позволяет предполагать участие эпигенетических механизмов в процессах обучения и формирования памяти.

Роль выявленных генов-кандидатов в процессах обучения и памяти показана впервые. Для всех выявленных генов имеются ортологи у человека.

Работа поддержана средствами федерального бюджета в рамках государственного задания ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН (№ 1021062411629-7-3.1.4). Благодарим ЦКП «Биоколлекция» ИФ РАН за помощь в поддержании линий дрозофилы.



Нейрогенетика патологических состояний, связанных с возбудимостью нервной системы: модели на линиях крыс

М.Б. Павлова¹, Н.В. Ширяева¹, И.Г. Шалагинова², А.Э. Вылегжанина^{1 2}, В.Д. Щербинина^{1 3},
Е.В. Даев^{1 3}, А.С. Левина¹, Н.А. Дюжикова¹

¹ ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН

² БФУ им. Иммануила Канта

³ Санкт-Петербургский государственный университет

dyuzhikova@infran.ru

Уровень возбудимости нервной системы является одной из наследственных характеристик, связанных с особенностями реакции на стресс и риском развития патологических состояний, нейропатологий, формирование которых обусловлено взаимодействием генетических и эпигенетических факторов, влияний внешней и внутренней среды организма. Как высокая, так и низкая возбудимость нервной системы являются факторами риска развития и долгосрочного течения постстрессорных тревожно-депрессивных расстройств, имеющих особенности проявления на различных уровнях (от поведенческого до молекулярного), что убедительно продемонстрировано в ходе многолетних исследований на линиях крыс с контрастным высоким и низким порогом возбудимости как периферического, так и центрального отделов нервной системы из Биоколлекции Института физиологии им. И. П. Павлова РАН (линии ВП и НП, соответственно).

В последние годы было обнаружено, что генетически-детерминированная высокая возбудимость нервной системы (линия НП) является фактором риска развития признаков нейровоспаления при постстрессорной патологии поведения у крыс. Выявлены особенности в изменении экспрессии генов провоспалительных, обуславливающих развитие нейровоспаления, и противовоспалительных цитокинов в клетках префронтальной коры, гиппокампа и миндалина. Получены новые данные о взаимосвязи экспрессии генов цитокинов, нейровоспаления и характера дестабилизации генома в клетках префронтальной коры, гиппокампа и миндалина с уровнем возбудимости нервной системы у крыс линий ВП и НП в долгосрочной динамике после эмоционально-болевого стрессорного воздействия.

Сравнительный анализ данных полногеномного секвенирования транскриптома гиппокампа позволил выявить гены, дифференциально экспрессирующиеся (ДЭГ) у крыс линий ВП и НП. У животных линии НП выявлена более высокая экспрессия генов нейромедиаторных систем, оказывающих тормозное действие на ЦНС, у линии ВП — генов, ассоциированных с синтезом коллагенов. Функциональная аннотация выявленных ДЭГ показала, что они ассоциированы с процессами, связанными с мембранами клеток. Обсуждается возможная роль выявленных ДЭГ в индивидуальной предрасположенности к развитию патологических состояний.

Работа поддержана средствами федерального бюджета в рамках государственного задания ФГБУН Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН (№ 1021062411629-7-3.1.4) и программы стратегического академического лидерства «Приоритет 2030» БФУ им. И. Канта.

Alu-полиморфизм гена *TEAD1* как фактор выживаемости при долголетии

Д.Д. Каримов^{1,2}, Т.Р. Насибуллин¹, И.А. Туктарова¹, Я.Р. Тимашева¹, В.В. Эрдман¹

¹ ИБГ УФИЦ РАН

² Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека, Уфа

lich-tsar@mail.ru

Долголетие — редкий фенотип замедленного старения, на данный момент точные механизмы продолжительности жизни неизвестны. В качестве одного из важных факторов продолжительности жизни рассматриваются митохондриальный биогенез, редокс-гомеостаз и аутофагия. Цель работы состояла в выявлении полиморфных вариантов генов аутофагии, ассоциированных с выживаемостью в возрасте долголетия.

Группа исследования состояла из жителей Республики Башкортостан. Общий объем выборки составил 1718 неродственных лиц (779 мужчин и 939 женщин) в возрасте от 18 до 114 лет. Получена информация о смерти всех участников старше 60 лет. Проведено определение частот инсерционно-делеционных аллелей и генотипов (I/D) генов-кандидатов долголетия, вовлеченных в регуляцию аутофагии. Статистическая обработка проводилась с использованием пакетов Scikit-learn и lifelines на языке программирования Python. Для отбора наиболее информативных предикторов был использован классификатор типа случайный лес с последующим анализом выживаемости Кокса.

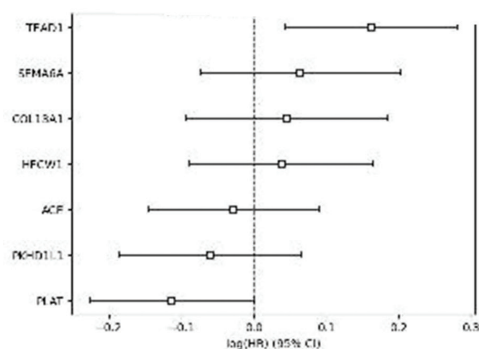


Рисунок 1. Значения и доверительные интервалы накопленного относительного риска для предикторов долголетия

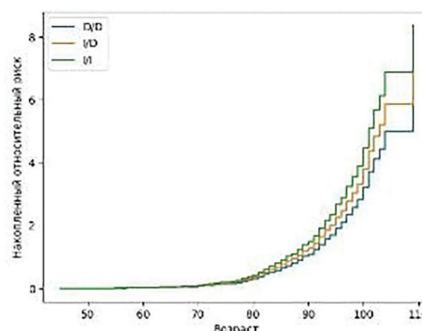


Рисунок 2. Относительный риск для генотипов гена *TEAD1*

По результатам отбора было выбрано семь генов, показавших наибольшую важность для построения дерева решений. Далее с использованием этих предикторов была построена регрессионная модель выживаемости Кокса (рис. 1). Из отобранных генов статистически значимо влиял на относительный уровень риска только Alu-(I/D) полиморфный локус гена *TEAD1* (HR = 1.17, CI = 1.04–1.32, $p = 0.0074$). Ген *PLAT* показывает тенденцию к наличию протективного эффекта (HR = 0.89, CI = 0.798–1.00, $p = 0.05$). Дальнейший анализ показал, что наибольший уровень относительного риска имеет гомозиготный инсерционный генотип гена *TEAD1* (рис. 2).

TEAD1 является белком, ассоциированным с сигнальным путем YAP/TAZ, участвует в развитии онкологических заболеваний, также является одним из регуляторов аутофагии [1].

Таким образом, согласно результатам анализа выживаемости, генотип I/I гена *TEAD1* является фактором повышенного риска смерти в возрасте долголетия.

[1] Sun T. et al. Autophagy-mediated negative feedback attenuates the oncogenic activity of YAP in pancreatic cancer // International Journal of Biological Sciences. — 2021. — Т. 17. — № 13. — С. 3634.

Работа поддержана грантом РФФ № 24-25-00179.



Сопряженная изменчивость генов-кандидатов и проявлений агрессивного поведения у современных представителей армянской популяции

О.Е. Лазебный¹, П.А. Прошаков¹, Л.А. Ревякина¹, А.М. Куликов¹

¹ ИБР РАН, Москва

o.e.lazebny@idbras.ru

Исследование генетических основ агрессивного поведения включает в себя сложные переменные, учитывая количественный характер поведенческих признаков и влияние среды, включая социокультурные факторы. Адекватный подход состоит в минимизации влияния внешних факторов, таких, как этническая, социальная и возрастная изменчивость, для получения объективных результатов. Исследования ассоциаций между генетическими полиморфизмами и агрессивным поведением фокусируются на генах, связанных с работой нервной системы и мозга, особенно дофаминовой и серотониновой системами, а также с действием половых гормонов.

В исследовании моноэтнической выборки армянских студентов рассмотрены три генетических локуса: rs53576 (ген *OXTR*), rs6311 (ген *HTR2A*) и микросателлитный локус *AR(CAG)n*, все связанные с агрессивным поведением. Поведенческие признаки, включая агрессию, формируются под воздействием генотипа и культурных ценностей. Социальные нормы и стратификация общества влияют на реализацию генотипа. Большинство наших исследований на генах-кандидатах агрессивного поведения, в том числе и на генах *OXTR*, *HTR2A* и *AR*, проведено в традиционных обществах, и интересно изучить их влияние в современной европейской культуре с более глубокой социальной стратификацией.

Результаты исследования показали, что распределение генотипов в выборке соответствует равновесному состоянию. Локус *AR(CAG)n* имеет 15 аллелей, с наибольшим представлением повторов от 20 до 24. Дисперсионный анализ выявил эффект гена *OXTR* на вербальную агрессию ($p = 0.048$), взаимодействие генов *AR* и *OXTR* на вербальную агрессию ($p = 0.002$), гнев ($p = 0.045$) и реактивную агрессию ($p = 0.003$). У мужчин обнаружен эффект гена *AR* на физическую агрессию ($p = 0.031$), у женщин — взаимодействие *OXTR* и *HTR2A* на реактивную агрессию ($p = 0.037$).

В результате применения непараметрического ассоциативного анализа, программы APSampler, мы выявили характерные генотипы для «менее агрессивных» (*OXTR* rs53576 – GG + *AR(CAG)n* – 24) и «более агрессивных» (*OXTR* rs53576 – AG + *HTR2A* rs6311 – A), подтверждая результаты дисперсионного анализа. Обнаруженные эффекты требуют дополнительной проверки на различных культурно-этнических группах.



Изменение активности сигнальных путей МАПК с возрастом как общий механизм патогенеза нейродегенеративных заболеваний

Н.А. Муралёва¹, Н.Г. Колосова¹

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (ИЦИГ СО РАН), 630090, Новосибирск

myraleva@bionet.nsc.ru

Возраст — ведущий фактор риска болезни Альцгеймера (БА) и возрастной макулярной дегенерации (ВМД), заболеваемость которыми увеличивается на фоне роста продолжительности жизни. Эффективных способов профилактики и лечения этих нейродегенеративных заболеваний нет, что обусловлено неполнотой знаний их патогенеза. Перекрываются механизмы патогенеза БА и ВМД, среди которых усиленный окислительный стресс, воспаление, нарушение митохондриальных функций и поддержания протеостаза, проявлением которого становится патологическая агрегация и накопление аномальных внеклеточных отложениях — сенильных бляшек в мозге пациентов с БА и в друзах больных ВМД. Развитие этих отклонений может быть ассоциировано с нарушением с возрастом регуляции МАПК сигнальных путей. Цель настоящего исследования — сравнение изменений активности ЕРК1/2 и р38МАПК сигнальных путей в структурах мозга и сетчатке с возрастом и при развитии БА и ВМД. Работа выполнена на крысах Вистар и OXYS — модели преждевременного старения, одним из проявлений которого становятся одновременное развитие признаков БА и ВМД.

Сравнение экспрессии генов, вовлечённых в сигнальные пути ЕРК1/2 и р38 МАПК (согласно Rat Genome Database), в сетчатке, префронтальной коре и гиппокампе крыс OXYS и Вистар (данных RNA-seq) показало, что уровни мРНК этих генов тканеспецифичны, зависят от генотипа животных и изменяются с возрастом. В сетчатке количество дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ), вовлеченных в эти пути, с возрастом снижается у крыс обеих линий и в 18 мес. минимально. Максимальные межлинейные различия наблюдались в возрасте 20 дней, на «доклинической» стадии развития ВМД-подобной патологии у крыс OXYS. В числе генов с повышенным уровнем мРНК есть как активаторы, так и ингибиторы активности ЕРК1/2 и р38 МАПК сигнальных путей. В возрасте 3 мес. (период манифестации признаков ВМД) количество ДЭГ снижается, при этом среди генов с повышенным уровнем мРНК преобладают гены-активаторы. И только в возрасте 18 мес., в период активной прогрессии признаков ВМД, в сетчатке крыс OXYS выявлены признаки снижения активности сигнальных путей на уровне экспрессии генов.

В структурах мозга крыс обеих линий характер изменений с возрастом профиля экспрессии генов, вовлеченных в ЕРК1/2 и р38МАПК сигнальные пути, был аналогичным тому, что мы наблюдали в сетчатке. При этом как в префронтальной коре, так и в гиппокампе с возрастом увеличивалось количество генов, экспрессия которых различалась у крыс OXYS и Вистар.

Объективным показателем активности сигнальных путей ЕРК1/2 и р38МАПК служит уровень фосфорилирования ключевых киназ. Мы оценили его на белковом уровне методом вестерн блот анализа. У крыс обеих линий во всех исследованных тканях — сетчатке, префронтальной коре и гиппокампе — с возрастом уровень фосфорилированных форм ЕРК1/2 и р38МАПК значительно возрастает. При этом у крыс OXYS их накопление происходит активней и усиливается по мере прогрессии признаков БА и ВМД.

Таким образом, наши результаты показали, что при физиологическом старении крыс Вистар и при преждевременном старении крыс OXYS в сетчатке и структурах мозга направленность изменений активности ЕРК1/2 и р38МАПК сигнальных каскадов как на уровне экспрессии генов, так и на белковом уровне одинакова. При этом как манифестация, так и прогрессия признаков БА и ВМД происходят на фоне усиленного фосфорилирования ЕРК1/2 и р38МАПК, что позволяет рассматривать повышение активности МАПК сигнальных путей как общий механизм развития БА и ВМД уже на ранних стадиях этих заболеваний.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 24-25-00030).



Роль гипоксии в реализации когнитивных функций у дрозофилы

Е.А. Никитина¹, А.В. Медведева², Д.М. Каровецкая¹, Е.В. Савватеева-Попова²

¹ Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена;

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН

² Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН

21074@mail.ru

Все живые организмы находятся в непрерывном взаимодействии с внешней средой, постоянно испытывают воздействие неблагоприятных факторов, вызывающих в клетке различные повреждения. По современным представлениям биохимические каскады, активируемые в ответ на стрессорное воздействие, вносят вклад и в когнитивные функции — обучение и формирование памяти. В настоящее время экспериментально доказано наличие общих механизмов, лежащих в основе формирования адаптивных процессов — стрессорной реакции и обучения.

Цель настоящей работы состояла в исследовании связи между развитием стрессорной реакции, сохранением целостности генетического аппарата и когнитивными функциями у дрозофилы.

В качестве стрессорного фактора было выбрано гипоксическое воздействие и изучено его влияние на возникновение хромосомных перестроек, а также обучение и среднесрочную память (ССП) дрозофилы в парадигме условно-рефлекторного подавления ухаживания.

Показано достоверное увеличение частоты появления мостов, это позволяет предположить, что действие гипоксии приводит к формированию двухцепочечных разрывов ДНК. Анализ когнитивного поведения линии дикого типа *Canton S* показал, что воздействие гипоксии во время тренировки и до нее не оказывает достоверного влияния на обучение и СПП. В то же время гипоксическое воздействие после тренировки приводит к достоверному снижению ИО сразу после обучения. Однако спустя 3 ч данный показатель возвращается к контрольному уровню. У мутанта *agn^{ts3}* (дефект синтеза LIMK1) предъявление гипоксии после тренировки также не влияет на способность к обучению и памяти. В то же время гипоксическое воздействие до и во время тренировки приводит к восстановлению способности к обучению. Это согласуется с показанным ранее фактом, что стрессорные воздействия для данного мутанта приводят к восстановлению способности к обучению и формированию памяти. Полученные данные позволяют говорить о том, что запуск клеточной реакции на гипоксию влечет за собой активацию каскадов, значимых для реализации когнитивных функций.

Работа выполнена при поддержке Государственной программы РФ 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019–2030) (тема 0134-2019-0004).



Роль гена *ANXA2A* в развитии нервной системы на модели *Danio rerio*

С.А. Партевян¹, Д.Р. Сафина¹, М.М. Руденок¹, М.И. Шадрина¹, П.А. Сломинский¹, С.В. Костров¹,
А.Х. Алиева¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт», Москва

s.partev@yandex.ru

Белок Annexin A2 (ANXA2), кодируемый геном *ANXA2*, выполняет целый ряд биологических функций. В настоящее время есть данные, которые указывают на вовлечение ANXA2 в процессы экзоцитоза, эндоцитоза и перекисного окисления. Известные данные о биологических функциях данного белка позволяют предположить, что нарушение функционирования ANXA2 может служить причиной для развития патологических процессов в нервной клетке. Ранее при изучении мышей с МФТП-индуцированной моделью болезни Паркинсона в нашей лаборатории впервые были выявлены выраженные изменения экспрессии гена *Anxa2* на уровне мРНК, которые могут указывать на его возможную роль в процессах нейродегенерации. Однако в настоящее время нет достаточных данных о роли изменения экспрессии этого гена в развитии нервной системы (НС) в норме и при патологии.

Анализ подавления экспрессии гена *ANXA2* и его влияния на состояние НС, и изучение изменения экспрессии генов-мишеней и генов-регуляторов *ANXA2* позволят лучше понять роль данного гена в нормальном функционировании НС и в развитии патологических процессов.

Для проведения исследований по изучению роли гена *ANXA2* в развитии НС с использованием морфолиновых олигонуклеотидов (МО) было осуществлено подавление экспрессии этого гена на рыбах *Danio rerio* (*D. rerio*). Нами были подобраны оптимальные последовательности и концентрации вводимых МО, а также наиболее подходящие временные точки для оценки изменений экспрессии мРНК кандидатных генов.

При использовании биоинформатических подходов для экспрессионного анализа на уровне мРНК нами были отобраны гены-мишени и гены-регуляторы гена *anxa2a*: *egf*, *egfra*, *ptenb*, *gfap*. Для этих генов был проведен экспрессионный анализ на временной точке 2 дня после фертилизации на уровне мРНК, при котором было выявлено достоверное снижение экспрессии генов: *egfra*, *ptenb*, *gfap*.

Таким образом, эти данные могут указывать на возможную роль гена *anxa2a* в развитии НС на ранних этапах развития, а также вовлечение его генов-мишеней и генов-регуляторов в функционирование НС.

Финансирование: работа поддержана грантом РФФ 22-75-00013.



Селекция лабораторных мышей на успешное решение когнитивного теста и на отсутствие решения. Сравнение поколений селекции

И.И. Полетаева¹, О.В. Перепелкина¹

¹ *Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва*

ingapoletaeva@mail.ru

Пластичность поведения млекопитающих (и лабораторных мышей, в частности) оценивают в специальных тестах, успешность или не-успешность выполнения которых может быть критерием для искусственного отбора. Ранее в лаборатории был проведен селекционный эксперимент на признак «способность к экстраполяции направления движения стимула» на основе генетически гетерогенной популяции (потомки от скрещиваний мышей линий C57BL/6, CBA, C3H, C57Br, DBA/2, BALB/c и A/He). Ответ на селекцию наблюдался только до F₉, после чего он стал неустойчивым, видимо, в связи со сложностью признака. В 2019 г. был начат новый селекционный эксперимент на успешность решения и на отсутствие решения более простого когнитивного теста (неисчезаемость по Ж. Пиаже), с более простой элементарной логической задачи. В этом тесте от животного требуется преодолеть препятствие, мешающее ему попасть в более комфортную среду из яркоосвещенной площадки. Мыши, успешно решавшие этот тест на «неисчезаемость», в линии «плюс» достоверно преобладали над такой группой в линии «минус». Отмечено, что у динии плюс оказались более высокие показатели рабочей памяти, теста на внимание и на новизну. Отметим, что таких селекционных экспериментов ранее не проводилось.

Поддержано грантом РФФ 23-25-00042.



Митохондрия как генетический хаб: траектория развития идеи

Е. В. Празднова¹, В. А. Чистяков¹

¹ Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону

prazdnova@sfedu.ru

Представление о том, что митохондрии выполняют в клетке роль управленческого хаба, в последние годы получило широкое распространение. В 2016 году нами была опубликована наша работа [1], обсуждающая основные положения концепции и экспериментальные доказательства в ее поддержку. Согласно данным PubMed, эта работа была первой, в которой обсуждалась данная концепция. В феврале 2024 года поиск в PubMed по ключевым словам «mitochondria, cell, hub» показывал существование уже 213 обзоров, посвященных развитию данной концепции, а экспериментальных работ было гораздо больше. При этом ряд публикаций не только повторяет основные тезисы первой публикации, но и практически дословно дублирует ее название, см. например [2].

Хотя данные работы обсуждают связь митохондрий с регуляторными каскадами, в основном эта связь рассматривается в контексте развития заболеваний, таких, как рак или как болезнь Альцгеймера. Основной же практический тезис работы [1], о том, что именно через митохондрии можно управлять регуляторными каскадами, изменения активности которых ведут к развитию старения, практически не получил дальнейшего развития в работах зарубежных коллективов. В одной из работ [3] обсуждается роль митохондрий в ускоренном, но не в физиологическом старении.

Развивая идеи, высказанные в [1], мы предположили, что ряд адаптогенных эффектов пробиотических микроорганизмов осуществляется за счет взаимодействия с митохондриями хозяина, что облегчается сходством управленческих каскадов бактерий и митохондрий. Так, нами было показано, что в основе способности пробиотических бацилл замедлять репродуктивное старение кур лежит снижение уровня повреждений митохондриальной, но не ядерной ДНК хозяина [4].

- [1] Zolotukhin P. V. et al. Mitochondria as a signaling hub and target for phenoptosis shutdown // *Biochemistry (Moscow)*. — 2016. — Т. 81. — С. 329–337.
- [2] Shen K. et al. Mitochondria as cellular and organismal signaling hubs // *Annual review of cell and developmental biology*. — 2022. — Т. 38. — С. 179–218.
- [3] Liu X. et al. Mitochondria as a sensor, a central hub and a biological clock in psychological stress-accelerated aging // *Ageing Research Reviews*. — 2023. — С. 102145.
- [4] Makarenko M. S. et al. The impact of *Bacillus subtilis* KATMIRA1933 supplementation on telomere length and mitochondrial DNA damage of laying hens // *Probiotics and antimicrobial proteins*. — 2019. — Т. 11. — С. 588–593.



Геропротекторный и радиопротекторный потенциал генетических и фармакологических воздействий на биогенез микроРНК на модели *Drosophila melanogaster*

Е.Н. Прошкина¹, Н.Р. Пакшина¹, Н.С. Уляшева¹, М.В. Шапошников¹, А.А. Москалев¹

¹ Институт биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар

kateplus@mail.ru

Старение представляет собой сложный многофакторный процесс, который сопровождается потерей функций организма, делает его предрасположенным ко многим заболеваниям и снижает адаптивные возможности, в конечном итоге приводя к гибели. В основе старения лежат изменения на молекулярно-генетическом уровне. Особую роль среди них играет нарушение эпигенетической регуляции, так как она является связующим звеном между состоянием генома, протеома и факторами внешней среды. Ее эффективность важна как для поддержания целостности и стабильности генетического аппарата, так и для настройки паттернов генной экспрессии для обеспечения жизнеспособности организма и его адекватной реакции на стрессоры. Предполагается, что коррекция возрастных эпигенетических изменений может оказаться эффективной геропротекторной и радиопротекторной стратегией.

Целью данной работы было оценить влияние генетических и фармакологических воздействий на биогенез микроРНК на продолжительность жизни и радиостойчивость *Drosophila melanogaster*. Показано, что как нокдаун, так и сверхэкспрессия генов *Drosha*, *Pasha*, *Dicer1* и *AGO1*, отвечающих за разные стадии биогенеза микроРНК, способны увеличивать или снижать продолжительность жизни дрозophil, в зависимости от ткани, где происходит индукция или подавление изучаемого гена, степени его экспрессии и пола животных. При этом продление жизни сопровождается повышением выживаемости дрозophil после острого воздействия гамма-излучения. Кроме того, изучили геропротекторные и радиопротекторные свойства двух препаратов, способных модулировать экспрессию микроРНК и влиять на активность белков их биогенеза, эноксацина и финголимода. Данные вещества увеличивают продолжительность жизни дрозophil, однако их эффект на радиостойчивость неоднозначен и зависит от пола животных и дозы облучения.

Исследования выполнены в рамках государственного задания по теме «Генетические и функциональные исследования эффектов геропротекторных интервенций на модели *Drosophila melanogaster*» (№ 122040600022-1).



Транскрипционные биомаркеры ранних стадий болезни Паркинсона

М.М. Руденок¹, Е.И. Семенова¹, Е.Ю. Федотова², А.В. Карабанов², А.В. Росинская³, О.Б. Доронина⁴,
К.С. Доронина⁴, С.Н. Иллариошкин², П.А. Сломинский¹, М.И. Шадрин¹, А.Х. Алиева¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт», Москва

² Научный центр неврологии, Москва

³ Приморская краевая клиническая больница № 1, Владивосток

⁴ НГМУ Минздрава России, Новосибирск

rudenokmm.img@yandex.ru

Болезнь Паркинсона (БП) — широко распространенное неврологическое заболевание, вызванное преимущественно гибелью дофаминергических нейронов (ДА-нейронов) черной субстанции. Такая гибель нейронов носит постоянный и прогрессирующий характер и может длиться долгие годы до проявления первых характерных моторных симптомов, по которым ставится диагноз.

В связи с длительным продромальным периодом, высокую актуальность приобретает поиск прогностических биомаркеров, которые позволят выявлять БП на максимально ранних стадиях. Одним из подходов к решению этой задачи является анализ изменения экспрессии генов в периферической крови. Лимфоциты крови обладают некоторыми характеристиками, типичными для ДА-нейронов, что позволяет предположить, что выявленные изменения в периферической крови больных БП могут отражать процессы, протекающие в мозге.

В настоящей работе был проведен экспрессионный анализ генов *LRRN3*, *MEF2C*, *SLC22A4*, *P2RY12*, *ADORA2A*, *MTA1*, *PTGDS*, *HNMT*, *NSF* и *PTGS2*. Анализ проводился в периферической крови пациентов с БП, получавших и не получавших терапию, а также в группах сравнения (неврологически здоровые добровольцы и пациенты с различными неврологическими заболеваниями). Такой подход позволяет выявить влияние терапии на изменение экспрессии генов, а также специфичность изменений для БП. К настоящему времени были выявлены изменения относительной экспрессии для ряда генов у пациентов с БП, при этом для генов *LRRN3*, *ADORA2A*, *HNMT*, *NSF* и *PTGS2* выявленные изменения являются специфичными для БП.

Полученные нами данные указывают на то, что данные гены могут быть вовлечены в патогенез БП, а также и рассматриваться в качестве потенциальных биомаркеров развития патологии на ранних доклинических и клинических стадиях БП.

Финансирование: работа поддержана грантом РФФ № 20-15-00262П.



Криптохром (cry) – универсальный и единый преобразователь света, температуры, гипоксии и магнитного поля Земли в успешность обучения и памяти

Е. В. Савватеева-Попова¹, Д. М. Каровецкая², Е. В. Токмачева³, Б. Ф. Щеголев^{3 4}

¹ Институт физиологии им ИП Павлова Санкт-Петербург

² Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена, Санкт-Петербург, Россия

³ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

esavvateeva@mail.ru

Рассматривая условный рефлекс как адаптацию к внешней среде, логично предположить его возникновение как реакцию на внешние вызовы, которые при подкреплении способствуют формированию условной связи, а при его отсутствии вызывают развитие стрессорной реакции. Как писали М. Е. Лобашев и В. Б. Савватеев в их монографии 1959 г. «Физиология суточного ритма» — «Вода определила развитие водной фауны, суша — наземной фауны и воздух — орнитофауны. Но общей для всех трех сфер мы должны признать четвертую — сферу времени суток... Разнообразие суточных ритмов активности способствует широкому размещению видов в пространстве, расширяет возможности их биологической специализации». И только в 2017 г. это подтверждено Нобелевской премией по физиологии и медицине нейрогенетикам дрозофилы Джеффри К. Холлу, Майклу Росбашу и Майклу У. Янгу за открытия молекулярных механизмов контроля циркадных ритмов. Оказалось, что интеграция перечисленных таймеров осуществляется белком семейства криптохромов (CRY), выполняющим функции рецептора голубого света и известного как репрессора главного циркадного транскрипционного комплекса CLOCK/BMAL1. Для разработки способов неинвазивной коррекции патологий нервной системы на модельном объекте генетики — дрозофиле — с использованием мутантных линий мы изучаем взаимосвязь адаптивных механизмов формирования условной связи и развития стрессорной реакции на ослабление магнитного поля, гипоксическое и температурное воздействие. Поэтому полученные нами данные мы обсуждаем в свете роли системы CRY/CLOCK/BMAL1 как основного звена магнито-рецепции, гипоксии, регуляции циркадного ритма, когнитивных функций и двухцепочечных разрывов ДНК в нервных ганглиях (показателя физиологической активности нейронов).



Изменение экспрессии генов, ассоциированных с гистаминергической системой, в тканях мозга молодых и взрослых мышей при моделировании ранней симптомной стадии болезни Паркинсона

Е. И. Семенова¹, М. М. Руденок¹, И. Н. Рыболовлев¹, М. В. Шульская¹, М. В. Лукашевич¹,
С. А. Партевян¹, П. А. Сломинский¹, М. И. Шадрина¹, А. Х. Алиева¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт», Москва
semyonovak@mail.ru

Болезнь Паркинсона (БП) — прогрессирующее с возрастом широкораспространенное нейродегенеративное заболевание, характеризующееся гибелью дофаминергических нейронов в компактной части черной субстанции (ЧС). Особенностью данного заболевания является длительный продромальный период, в течение которого у пациентов часто наблюдаются различные расстройства сна. Важную роль в регуляции цикла сон-бодрствование играет гистаминергическая система. Известно, что гистаминергические нейроны могут быть уязвимыми при старении и развитии нейродегенеративных процессов. Можно предположить, что изменения в функционировании гистаминергической системы могут быть вовлечены в патогенез БП. При этом неясно, будут ли подобные изменения зависеть от возраста начала развития заболевания. Целью настоящей работы было проведение анализа изменения относительных уровней мРНК генов, ассоциированных с гистаминергической системой (*Hrh1*, *Hrh3*, *Hnmt*, *Per1*, *Per2* и *Chrm3*), в тканях ЧС и стриатума мышей в зависимости от возраста, а также при моделировании ранней симптомной стадии (РСС) БП на молодых и взрослых мышах с помощью МФТП.

Для проведения настоящей работы использовались мыши-самцы линии C57BL/6. Моделирование РСС БП проводилось в соответствии с протоколом, описанным ранее [1]. Определение относительных уровней мРНК генов проводилось с использованием обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени с зондами TaqMan.

В результате работы было обнаружено изменение экспрессии исследуемых генов в тканях мозга мышей как при нормальном старении, так и при моделировании РСС БП. Полученные нами данные могут указывать на изменение функционирования гистаминергической системы с возрастом, а также на вовлеченность данной системы в патогенез БП на ранней стадии.

[1] *Ugrumov, M., et al. Modeling of presymptomatic and symptomatic stages of parkinsonism in mice // Neuroscience, 2011. 181: p. 175–88.*

Финансирование: Работа проведена при поддержке РФФ (Соглашение № 20-15-00262П).

Симпозиум 20: Селекция и биотехнология микроорганизмов
Symposium 20: Biotechnology and Breeding of Microorganisms



Программный конвейер для сборки и аннотации бактериальных геномов

К.С. Антоненц^{1 2}, А.Е. Шиков^{1 2}, М.А. Нестеренко², М.Н. Романенко^{1 2}, А.А. Нижников^{1 2}

¹ Лаборатория протеомики надорганизменных систем,

ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

k.antonets@arriam.ru

Многие бактерии, к примеру, представители группы *Bacillus*, находят применение в сельском хозяйстве и биотехнологии. К возможному использованию в сельском хозяйстве относится создание на основе бактериальных штаммов биологических препаратов, стимулирующих рост сельскохозяйственных растений, обеспечивающих их защиту от фитопатогенов и вредителей, а также пробиотиков для сельскохозяйственных животных. Применение бактериальных штаммов в сельском хозяйстве обусловлено уникальным спектром белков и низкомолекулярных соединений, продуцируемых бактериями. Возможность синтеза этих ценных соединений закодирована в геноме конкретных бактериальных штаммов. В настоящее время существует много биоинформатических инструментов, выполняющих отдельные этапы обработки данных полногеномного секвенирования. В то же время, для повышения эффективности и скорости анализа геномов, важно наличие интегрированных инструментов, которые позволяют провести весь процесс обработки от сырых данных до выявления ключевых особенностей генома за один этап. Нами был разработан эффективный программный конвейер, опережающий по своим характеристикам мировые аналоги, осуществляющий сборку генома бактерий из сырых прочтений и аннотацию полученного генома с выявлением его ключевых особенностей.

К выявляемым свойствам бактерий относятся наличие генов, кодирующих факторы вирулентности, ряд бактерицидных и фунгицидных соединений, а также предсказание инсектицидных свойств штаммов, что позволяет относительно быстро проводить комплексную оценку потенциала анализируемых при помощи данного программного конвейера бактериальных штаммов для сельского хозяйства в целях создания микробиологических препаратов для защиты сельскохозяйственных растений от вредителей и патогенов.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №24-16-00284.



Зависимость антистрессовых эффектов ризобактерий от генотипа растения и корневой экссудации

А.А. Белимов¹, А.И. Шапошников¹, Т.С. Азарова¹, В.Ю. Шахназарова¹, Н.А. Вишневская¹,
Э.А. Сексте¹, М.И. Лебединский¹, А.А. Бутин¹, О.С. Юзихин¹, В.И. Сафронова¹, И.А. Тихонович¹

¹ ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии

belimov@rambler.ru

Внутривидовая изменчивость сельскохозяйственных растений по устойчивости к почвенно-климатическим факторам, таким, как засуха, загрязнение почвы тяжелыми металлами, повышенная кислотность почвы и другим, интенсивно изучается во многих странах. Описана высокая вариабельность генотипов и сортов по данным признакам для многих видов. Однако остается без ответа много вопросов о механизмах устойчивости, которые обусловлены генетическими особенностями растений и физиологическими и биохимическими реакциями на стресс. Корни растений выделяют в ризосферу большое количество разнообразных органических веществ, называемых корневыми экссудатами. Эти вещества участвуют во взаимодействии растений с почвой, а именно: повышают доступность элементов минерального питания, регулируют кислотность почвы и нейтрализуют токсичные элементы. Корневые экссудаты являются также легкодоступным и важнейшим источником питания для микроорганизмов, что обуславливает активную колонизацию корневой зоны (ризосферный эффект). Благодаря этому в ходе эволюции растения выработали способность формировать сообщества ризосферных микроорганизмов и образовывать мутуалистические симбиозы, которые оказывают положительное действие на их рост и питание, обеспечивают биоконтроль фитопатогенов, способствуют адаптации к стрессовым факторам за счет оптимизации метаболизма, модуляции гормонального статуса, обеспечения питательными ресурсами и снижения заболеваемости. Например, ризосферные бактерии утилизируют 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат, входящий в состав корневых экссудатов, и снижают избыточное количество стрессового гормона этилена в присутствии токсичных металлов, засухи, экстремальных температур и засоленности почвы. Обусловленная корневой экссудацией способность микроорганизмов иммобилизовать тяжелые металлы и алюминий, благодаря изменению рН среды, продуцированию сидерофоров и полисахаридов и образованию нерастворимых фосфатов, снижает их токсичность на загрязненных и кислых почвах. В докладе обсуждаются: (1) внутривидовая вариабельность растений по качественному и количественному составу основных фракций низкомолекулярных органических веществ, таких, как органические кислоты, аминокислоты и сахара; (2) связанные с корневой экссудацией механизмы взаимодействия растений с ризосферными микроорганизмами в присутствии токсичных концентраций металлов (кадмий, ртуть, алюминий) и повышенной кислотности среды (токсичность алюминия). Показана важная роль генотипа растения в реализации положительных эффектов микроорганизмов на само растение и на стрессовый фактор, которые обусловлены корневыми экссудатами.

Работа поддержана грантами РНФ (№ 19-16-00097 и № 20-76-10042П) и Минобрнауки РФ (ИЦМУ «Агротехнологии будущего», No. 075-15-2922-320 от 04.20.2022).



Инженерия *Mycolicibacterium smegmatis* для продукции прогестерона

А.А. Бяков^{1, 2}, М.В. Карпов¹, Н.И. Стрижов¹, А.А. Шутов¹, М.В. Донов¹

¹ ФГБУН Федеральный исследовательский центр «Пушинский научный центр биологических исследований Российской академии наук», Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Московская область, 142290, Российская Федерация

² Пушинский филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)», Пушкино, Московская обл., 142290, Российская Федерация

artyom.byakov.wrk@yandex.ru

Прогестерон — это природный гормон млекопитающих, необходимый для поддержания репродуктивных функций, беременности и вынашивания плода, участвует в обмене костной ткани и обладает нейропротекторными свойствами. В организме млекопитающих он образуется из холестерина за счет активности холестерингидроксилазной/С20-С22-лиазной ферментной системы (ХГС) с цитохромом P450_{ssc} и 3 β -гидроксистероиддегидрогеназы (HsdD).

Нами ранее впервые была продемонстрирована способность актинобактерий *Mycolicibacterium smegmatis* mc²155 к функциональной экспрессии генов ХГС коры надпочечников быка в составе плазмиды pNS11 под контролем ацетамидазного промотора, обеспечивающей продукцию прогестерона из холестерина [1]. Однако образующийся прогестерон подвергался деградации под действием собственных ферментов микобактериального штамма.

В клетках *M. smegmatis* ферменты CYP142A2, CYP125A3 и CYP125A4 участвуют в деградации боковой цепи стероидов, а HsdD окисляет 3 β -гидроксигруппу до 3-кето, снижая количество субстрата для ХГС. Действие KstD с KshB приводят к деструкции стероидного ядра у субстрата и продукта.

Целью работы являлось увеличение выхода прогестерона путём введения метаболических блоков в клетки *M. smegmatis*.

С целью предотвращения нежелательного окисления 3 β -гидроксигруппы холестерина и деструкции стероидного ядра были нокаутированы гены *hsd*, *kstD* и *kshB*, контролирующие ключевые этапы деградации прогестерона. Полученный рекомбинантный штамм *M. smegmatis* Δ (*hsdD*, *kstD*, *kshB*), несущий плазмиду pNS11, продуцировал более, чем в 2 раза больше прогестерона, концентрация которого не снижалась в процессе ферментации.

Дальнейшее увеличение концентрации прогестерона было достигнуто путем введения нокаутных мутаций в генах *сyp142A2* и *сyp125A3* за счет замедления окисления холестерина. Делеция в гене *сyp125A4* не влияла на скорость образования и выход прогестерона.

Результаты важны для понимания генетического контроля микробиологической деградации стероидов и особенностей функционирования эукариотических систем в микобактериальных хозяевах, а также вносят вклад в разработку одностадийной микробной биотехнологии получения ценных прогестиннов.

[1] Strizhov N., Fokina V., Sukhodolskaya G., Dovbnya D., Karpov M., Shutov A., Novikova L., Donova M. Progesterone biosynthesis by combined action of adrenal steroidogenic and mycobacterial enzymes in fast growing mycobacteria // New Biotechnology. 2014. V. 31. P. S67.

[2] Brzostek A., Rumijowska-Galewicz A., Dziadek B., Wojcik E. A., Dziadek J. J. Steroid Biochem // Mol. Biol., 134, 1–7 (2013).

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского Научного Фонда (грант № 21-64-00024).



Консорциумы для биологической защиты растений

Ш.З. Валидов¹, Е.Ю. Шульга¹, Б.Р. Исламов¹, М.Д. Фролов¹, А.Ю. Суханов¹, Р.Ж.К. Диабанкана¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
«Федеральный исследовательский центр «Казанский научный центр Российской академии наук»
sh.validov@knc.ru

Биологические средства защиты растений являются безопасной альтернативой химическим пестицидам, а в случае органического земледелия одними из немногих разрешенных средств фитостимуляции и борьбы с заболеваниями растений. Применение биопрепаратов в открытом грунте, как правило, менее эффективно в силу большого количества переменных факторов абиотического и биотического характера, таких, как само растение и населяющий его консорциум микроорганизмов. По сравнению с единичным штаммом, применение нескольких штаммов, имитирующих естественные консорциумы, может дать более стабильный защитный и стимулирующий эффект в силу суммарного набора полезных свойств участников микробного консорциума и конкуренции консорциума совместимых штаммов с естественной микрофлорой растения.

Используя естественные микробные сообщества культурных растений как образец, мы предложили сочетания полезных штаммов для применения в качестве биопрепаратов. Штаммы, выделяемые из одной и той же пробы, могли проявлять антагонизм по отношению друг к другу, тем не менее, для использования в виде консорциума, мы отбирали исключительно совместимые штаммы. Эта совместимость была проверена как *in vitro*, так и *in vivo (in planta)*. Созданные консорциумы более эффективно защищали растения от фитопатогенов в модельных экспериментах и в полевых испытаниях, а также показали увеличение урожайности культур, на которых они испытывались.

Сравнение геномов четырех штаммов *Bacillus mojavensis* АОП29, *Pseudomonas azotoformans* КОП35, *Pseudomonas migulae* КОП88 и *Stenotrophomonas rhizophila* АОП9, образующих консорциум, показало, что у всех четырех штаммов имеются генетические системы, способствующие улучшению минерального питания растений, фитостимуляции, а также гены синтеза вторичных метаболитов, обеспечивающих антагонистические свойства этих микроорганизмов. Характерно, что у данных штаммов имеется богатый набор генов, отвечающих за «резистом», то есть за устойчивость этих штаммов к антимикробным метаболитам. Мы предполагаем, что наличие этих генетических систем может характеризовать потенциально совместимые штаммы.

Работа выполнена при поддержке Министерства Науки и Высшего Образования в рамках проекта «Генетическая технология конструирования искусственных консорциумов микроорганизмов для создания биопрепаратов в растениеводстве» Соглашение № 075-15-2021-1395 от «25» октября 2021 г., а также при поддержке государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН.



Изменение метаболических характеристик винных дрожжей с помощью геномного редактирования

Е. А. Васягин¹, А. Л. Ракитин¹, Е. С. Марданова¹, А. В. Белецкий¹, М. Ю. Шаламитский², Т. Н. Танащук²,
В. Н. Ураков¹, В. В. Кушниров¹, Н. В. Равин¹, А. В. Марданов¹

¹ ФИЦ Биотехнологии РАН, г. Москва

² Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН,
г. Ялта

egor.vasyagin@gmail.com

Современное промышленное виноделие часто включает использование специальных культур винных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Процесс производства многих красных и некоторых белых вин обычно включает две последовательные стадии брожения: первая стадия — с участием винных дрожжей, а вторая — яблочно-молочное брожение (ЯМБ), проводимое молочнокислыми бактериями. Введение этой стадии в технологический процесс помогает снизить кислотность и улучшить аромат вина. Однако молочнокислые бактерии, участвующие в ЯМБ, могут подвергаться ингибированию в условиях винного брожения. В связи с этим возникает интерес к созданию дрожжевых штаммов, способных проводить как винное брожение, так и ЯМБ. Еще одной проблемой в производстве вина является образование этилкарбамата, канцерогена, который образуется в результате реакции этанола с карбамоильными соединениями, в основном с мочевиной, выделяемой дрожжевыми клетками, во время брожения и хранения вина. Целью работы было улучшение характеристик дрожжей, используемых в отечественном виноделии, с помощью геномного редактирования.

В качестве объекта исследований в работе был использован штамм дрожжей *S. cerevisiae* I-328 из коллекции ВНИИ виноградарства и виноделия «Магарач» РАН, который используется в виноделии. Штамм является триполидным. Этилкарбамат образуется из мочевины, поэтому снижение концентрации мочевины опосредованно приведет к снижению содержания этилкарбамата в вине. Были получены два модифицированных штамма. Первый штамм со сниженным уровнем продукции этилкарбамата. Для этого с помощью системы CRISPR/Cas9 была произведена делеция гена *CAR1*, ответственного за превращение аргинина в мочевины и орнитин. Для создания второго дрожжевого штамма, способного к ЯМБ, в его геном вместо гена *CAR1* была интегрирована кассета экспрессии с генами малат-пермеазы и малолактоического фермента, под контролем промоторов, активных на поздних стадиях брожения. Ген малат-пермеазы был взят из дрожжей *Schizosaccharomyces pombe*, продукт этого гена осуществляет активный перенос яблочной кислоты внутрь дрожжевых клеток. Ген малолактоического фермента был взят из молочнокислой бактерии *Oenococcus oeni*. Этот фермент осуществляет декарбоксилирование L-яблочной кислоты до L-молочной кислоты и диоксида углерода. В результате полногеномного секвенирования было подтверждено, что во всех трех копиях хромосомы для первого штамма был делетирован ген *CAR1*, а для второго показана успешная интеграция кассеты ЯМБ вместо этого гена. Последующая функциональная характеристика полученных штаммов в условиях микроиноделия показала, что инактивация гена *CAR1* не оказала влияния на основные технологические показатели виноматериалов, при этом концентрация этилкарбамата в них уменьшилась на 50%, а использование штаммов с интеграцией кассеты ЯМБ позволяло утилизировать до 90% L-яблочной кислоты.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий (соглашение 075-15-2021-1071).



Разработка нового подхода активации мобильных элементов с использованием VIGS

А.В. Власова^{1, 2}, Е.Д. Камараули^{1, 2}, Д.В. Перевозчиков², И.В. Киров^{1, 2}

¹ ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)»,
г. Долгопрудный

² ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», г. Москва
vlasova.nactia@yandex.ru

Мобильные элементы (МЭ) являются одним из главных источников мутаций, способствующих генетическому разнообразию диких растений и современных сельскохозяйственных культур. Транспозиция мобильных элементов может образовывать новые комбинации генов и последовательностей ДНК, а также приводить к регуляции генов, их активности и экспрессии, что в конечном итоге создает фенотипическую и генетическую вариабельность растений. Таким образом, временная активация мобильных элементов растений в контролируемых условиях может стать перспективным направлением в создании безтрансгенной технологии внесения мутаций для ускорения селекции растений, называемой ТЕ-опосредованный биологический мутагенез [1].

Активное изучение биологии мобильных элементов за последние десятилетия позволило выявить условия и механизмы индукции экспрессии транспозонов и их транспозицию в новые места генома, а также были установлены гены, участвующие в регуляции мобильных элементов [2; 3]. Так, в работе Cuerda-Gil and Slotkin, 2016 [3] был описан уникальный механизм растений, называемый РНК-зависимое ДНК метилирование (RdDM), в котором участвуют РНК-полимеразы IV и V, а также метилтрансфераза DRM2, с помощью которых осуществляется метилирование мобильных элементов. Благодаря знаниям о механизмах контроля мобильных элементов и генах, участвующих в этих процессах, можно, воздействуя на эти гены, активировать транспозоны.

В качестве инструмента для временного нокдауна генов, участвующих в пути RdDM, нами предложен метод вирус-индуцированного сайленсинга генов (VIGS), используемый для функциональной геномики. Благодаря методу VIGS в нашей работе, был осуществлен сайленсинг гена NRPE1, кодирующего большую субъединицу Pol V, и представлены результаты анализа активности мобильных элементов на примере LTR-ретротранспозона ONSEN (ATCOPIA78). А именно установлена сверхактивность мобильного элемента ONSEN путем детекции в реальном времени его внехромосомных кольцевых и линейных молекул ДНК.

Таким образом, в нашей работе представлен новый подход для активации мобильных элементов, основанный на вирус-индуцированном сайленсинге генов (VIGS), вовлечённых в регуляцию транспозонов, который может стать основой для ТЕ-опосредованного биологического мутагенеза растений.

- [1] *Kirov I.* Toward Transgene-Free Transposon-Mediated Biological Mutagenesis for Plant Breeding // *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Т. 24. № 23. С. 17054.
- [2] *Baduel P. et al.* Genetic and environmental modulation of transposition shapes the evolutionary potential of *Arabidopsis thaliana* // *Genome Biology*. 2021. Т. 22. № 1. С. 138.
- [3] *Gilbert C., Feschotte C.* Horizontal acquisition of transposable elements and viral sequences: patterns and consequences // *Current opinion in genetics & development*. 2018. Т. 49. С. 15–24.

Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда № 22-64-00076.



Системы гипер-продукции белков в промышленно-значимых микроорганизмах

К.В. Лавров¹, А.Д. Новиков¹, А.О. Шемякина¹, Е.Г. Гречишникова¹, А.С. Яненко¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт», Москва

lavrov.ko@gmail.com

Белки широко используются в разных отраслях экономики, а именно в медицине, биокаталитическом химическом синтезе, производстве бумаги, сельском хозяйстве, и других отраслях. Эффективная продукция индивидуальных белков осуществляется в клетках бактерий, дрожжей, мицелиальных грибов и высших эукариот. В зависимости от назначения белка и его особенностей, в клетке при продукции могут требоваться пост-трансляционные модификации, подходящие окислительно-восстановительные условия и специфические шапероны, а также системы секреции. Выбор «платформы» для продукции белка определяется сбалансированным сочетанием продуктивности экспрессионных систем в данных клетках и возможностями клетки для синтеза активной формы конкретного белка.

Бактерии являются одними из наиболее эффективных платформ для продукции целевых белков, так как культуры бактерий быстро растут на недорогих питательных средах, и для них разработаны системы гиперэкспрессии целевых генов. Наиболее известной из таких систем является комбинация ДНК-полимеразы бактериофага T7 и промотора гена $\phi 10$ этого же фага, обеспечивающая продукцию целевого белка до 50% от растворимых клеточных белков [1]. Сравнимые, хотя и сниженные по сравнению с T7, уровни продукции в *E. coli* обеспечивают некоторые другие промоторы [2–4] и система single protein production, основанная на действии мРНК-интерферазы [5]. Для других бактерий высокопродуктивные системы разработаны недостаточно. Ярким примером такой системы в т. н. «неплатформенных» бактериях является гипер-продукция целевых белков в бактериях *Rhodococcus* под контролем регулируемых промоторов разной активности [6]. Эта система обеспечивает продукцию белка на уровне наиболее мощной системы T7-экспрессии, что является практически пределом продуктивности клетки по определённому белку, и используется для конструирования биокатализаторов для химического синтеза [7] и биоремедиации окружающей среды [8, 9].

- [1] Studier, F. W. (2018) T7 Expression Systems for Inducible Production of Proteins from Cloned Genes in *E. coli* // Curr. Protoc. Mol. Biol. 124, e63.
- [2] Bujard H. et al. (1987) A T5 promoter-based transcription-translation system for the analysis of proteins in Vitro and in Vivo // Methods Enzymol. 1987:155:416–33..
- [3] Wegerer A. et al. (2008) Optimization of an *E. coli* L-rhamnose-inducible expression vector: test of various genetic module combinations // BMC Biotechnology volume 8, Article number: 2.
- [4] Gundinger T. et al. (2022) Recombinant Protein Production in *E. coli* Using the *phoA* Expression System // Fermentation 2022, 8(4), 181; doi: 10.3390/fermentation8040181
- [5] Suzuki, M. et al. (2005) Single protein production in living cells facilitated by an mRNA interferase // Mol. Cell 18, 253–261.
- [6] Shemyakina A. et al., (2021) A Set of Active Promoters with Different Activity Profiles for Superexpressing *Rhodococcus* Strain // ACS Synthetic Biology 2021 10 (3), 515–530
- [7] Lavrov K. et al., (2023) A new concept of biocatalytic synthesis of acrylic monomers for obtaining water-soluble acrylic heteropolymers // Metabolic Engineering Communications, Published online: 19 December 2023.
- [8] Lavrov K. V. et al. (2021) Draft Genome Sequence of *Rhodococcus qingshengii* (Formerly *erythropolis*) TA37, a First-Generation Biocatalyst for Synthesis of Functionalized Acrylamides // Microbiology Resource Announcements Vol. 10, No. 50.
- [9] Novikov A. D. et al. (2021) Draft genome sequence of *Rhodococcus erythropolis* HX7, a psychrotolerant soil-derived oil degrader // Microbiol Resour Announc 2021 Jan 21;10(3):e01353-20. doi: 10.1128/MRA.01353-20.

Работа выполнена при поддержке Государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».



Исследование механизмов транспорта гидроксиаминокислот и аминокислот с разветвленным радикалом через цитоплазматическую мембрану *Escherichia coli* K-12

А.А. Хозов^{1, 2}, Д.М. Бубнов¹, Т.В. Выборная¹, А.А. Степанова¹, О.Е. Мелькина¹, С.В. Молев^{1, 2},
А.А. Привалова^{1, 3}, А.И. Нетрусов², С.П. Синеокий¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт», Москва, Россия

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия

³ Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова МИРЭА – Российского технологического университета, Москва, Россия

khozov.m@student.msu.ru

Изучение механизмов транспорта аминокислот через цитоплазматическую мембрану является необходимым условием для исчерпывающего понимания взаимодействия бактериальной клетки с окружающей средой. Помимо вклада в фундаментальные исследования микробной физиологии, эти знания имеют прикладное значение в контексте задач промышленной биотехнологии. Так, исследование транспорта L-треонина из цитозоля клетки *Escherichia coli*, начатое в конце 80-х годов прошлого века во ВНИИгенетика под руководством проф. В. Г. Дебабова, Ю. И. Козлова и В. И. Лившица [1, 2], позволило значительно улучшить свойства штамма-продуцента этой аминокислоты.

Продолжая работу по совершенствованию продуцента треонина, мы идентифицировали новый белок YifK, потенциально принимающий участие в импорте треонина и серина. Мы показали, что YifK является H⁺-зависимым транспортером, а также определили его K_M и V_{max} по отношению к обоим аминокислотам. Инактивация YifK позволила нам прямо измерить активность переносчиков аминокислот с разветвленным радикалом BrnQ и LIV-I, для которых функция транспорта треонина ранее не была показана. Результаты исследования свидетельствуют, что BrnQ является низкоафинным транспортером, тогда как LIV-I обладает значительно большей специфичностью. Инактивация YifK, LIV-I и BrnQ привела к практически полному исчезновению транспортной активности по отношению к треонину и серину. Из этого следует, что все функциональные системы транспорта гидроксиаминокислот были идентифицированы.

Исследование транспорта аминокислот с разветвленным радикалом в штамме, лишенном основных переносчиков LIV-I и BrnQ, показало, что значительная доля остаточной активности в отношении изолейцина связана с функцией гена *yhjE*. Вместе с тем, YhjE не участвует в поглощении лейцина. Ингибиторный анализ показал, что YhjE может обладать активностью в отношении валина, цистеина и тирозина. Результаты изучения регуляции экспрессии YhjE свидетельствуют, что синтез этого переносчика подавляется в присутствии в питательной среде L-изолейцина, L-метионина и L-лейцина.

Таким образом, в ходе нашей работы была показана функция двух прежде не охарактеризованных генов, *yifK* и *yhjE*, что позволяет получить более точное и исчерпывающее представление о путях транспорта гидроксиаминокислот и аминокислот с разветвленным радикалом через цитоплазматическую мембрану *E. coli*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Государственного задания НИЦ «Курчатовский институт» и частичной поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 075-15-2019–1659.

[1] Livshits et al. (2003). Identification and characterization of the new gene *rhtA* involved in threonine and homoserine efflux in *Escherichia coli* // Res Microbiol. 154(2):123–35. doi: 10.1016/S0923–2508(03)00036–6.

[2] Debabov V. G. (2003). The threonine story // Adv Biochem Eng Biotechnol. 79:113–36. doi: 10.1007/3–540–45989–8_4.

КРУГЛЫЙ СТОЛ 1:

Этические, правовые и социальные аспекты
генетических и геномных исследований

ROUND TABLE 1:

Ethical, Legal and Social Aspects of Genetic and Genomic
Research



Информированность научного сообщества о правовом и этическом регулировании геномных исследований, представления о необходимости такого регулирования и результаты опроса участников VII съезда ВОГиС

С. А. Боринская¹

¹ *Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН*

borinskaya@vigg.ru

Представители профессионального научного сообщества наиболее информированы о сути геномных исследований и их возможных последствиях, как позитивных, так и негативных. По результатам социологических опросов известны представления широкой публики о ГМО, ЭКО и ряду других вопросов. Однако опросы специалистов-генетиков о том, как следует регулировать геномные исследования, практически не проводились. В докладе будут представлены результаты такого опроса участников VII съезда ВОГиС. Полученные результаты позволяют представить соотношение взглядов на правовое и этическое регулирование геномных исследований у представителей генетического сообщества. Выявлены вопросы, по которым наиболее различаются ответы представителей разных возрастных групп. Это вопрос о законодательном запрете выращивания ГМО в России и вопрос о том, чье согласие требуется при использовании следственными органами генетических баз данных для расследования преступлений, который в настоящее время принято рассматривать с позиций баланса между частными и общественными интересами. Более 75% опрошенных считают необходимым развитие правового регулирования геномных исследований либо в целом, либо в отдельных областях исследований.



Этические проблемы диагностики и терапии наследственных болезней

В.Л. Ижевская¹

¹ *Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова, Москва*

izhevskaya@m5ed-gen.ru

Основная задача биоэтики — способствовать выявлению различных позиций по моральным проблемам, возникающим в результате прогресса биомедицинской науки и практики, и поиску морально обоснованных и социально приемлемых решений этих проблем. Большинство этических вопросов современной медицинской генетики могут быть решены в рамках принципов (уважение человеческого достоинства, «делай благо и не навреди», признание автономии личности и справедливость) и правил (правдивость, конфиденциальность, неприкосновенность частной жизни и добровольное информированное согласие) биоэтики. В этих принципах и правилах выражен моральный минимум отношения к пациенту как к личности. Быстрое развитие биомедицинских технологий позволило разрабатывать различные инновационные методы диагностики наследственных заболеваний и лекарственные препараты генной терапии.

В целом уже понятно, что геномное тестирование будет предлагаться все чаще, но при этом важно помнить, что технологические возможности в ряде случаев могут превышать клиническую пользу для пациентов, а решение о тестировании должно быть добровольным и, что важно, — информированным. В настоящее время значительную часть исследований в области генетики человека и медицинской генетики проводят с использованием образцов тканей, генеалогических, популяционных, медицинских и персональных данных. Подобная ситуация все больше подчеркивает значимость сохранения информации о данных геномного секвенирования или любых других тестов пациента для последующего реанализа данных, а также их сохранности, включая, в том числе, образцы биологического материала индивида и его семьи.

Появление генотерапевтических лекарственных средств дает надежду многим пациентам с прежде неизлечимыми заболеваниями на существенное улучшение качества жизни. Вместе с тем, концепция изменения ДНК человека даже для лечения тяжелого наследственного заболевания привела к междисциплинарным дискуссиям о моральной ответственности исследователей и врачей и допустимых методах вмешательства в геном человека с учетом принципа уважения человеческого достоинства. Особенно активными дискуссии об этичности вмешательства в геном человека стали в последние годы в связи с разработкой методов редактирования генов. Генная терапия соматических клеток является наименее проблематичной с точки зрения этики. Иное отношение сложилось к генотерапии и редактированию генов клеток зародышевой линии (половых клеток, эмбрионов человека). Споры ученых и специалистов по этике касаются, в основном, рождения людей с искусственно измененным геномом, преимущественно потому, что это чревато изменениями генетической конституции будущих поколений, которые не принимали участия в принятии решения, и эти технологии могут оказать влияние на человеческий генофонд.

При обсуждении проектов практического применения геномных технологий в медицине необходимо сосредоточиться не только на технологических или медико-генетических аспектах проблемы, но и учитывать весь комплекс социогуманитарных и биоэтических вопросов.



Правовые аспекты применения генетических технологий в природоохранной деятельности

Р.Г. Новикова¹

¹ ФГБУ «ВНИИ Экология» г. Москва

ramiletta@gmail.com

С целью регулирования отношений в области охраны и использования животного мира, среды его обитания и в целях обеспечения биологического разнообразия, устойчивого использования и иной защиты животного мира, как неотъемлемого элемента природной среды, в Российской Федерации на законодательном уровне действуют федеральные законы «О животном мире», «Об охоте и о сохранении охотничьих ресурсов, и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации», «О рыболовстве и сохранении водных биологических ресурсов» и ряд других актов. Однако законодательство Российской Федерации является весьма динамичным, требующим не только соизмерения законодательства разнонаправленного, но и согласованности между правовыми актами разного уровня, а также положений ряда международных конвенций. Молекулярно-генетические технологии, основанные на ДНК-анализе, давно зарекомендовали себя как эффективные ключевые методы разрешения правовых вопросов, сопряженных с биологическими аспектами и охраной окружающей среды.

Доклад раскрывает правовые аспекты природоохранной генетики, в том числе применения генетических и геномных подходов для охраны, поддержания и восстановления генофонда редких и ценных видов животных Российской Федерации. С учетом законодательных новелл будут рассмотрены перспективные направления в отношении идентификации, паспортизации и редких, и охраняемых видов животных, в том числе для проведения молекулярно-генетической экспертизы по незаконной добыче и обороту объектов животного мира.



Биоэтическая диагностика, оценка и купирование социальных рисков геномных биомедицинских исследований

П. Д. Тищенко¹

¹ Москва

pavel.tishchenko@yandex.ru

В последнее время в России значительно вырос интерес к биоэтическим проблемам, провоцируемым бурным прогрессом геномных и других биомедицинских технологий. Они активно обсуждаются на научных конференциях разного уровня и страницах научных изданий. Нередко эти проблемы обсуждаются в средствах массовой информации, иногда приобретая неадекватно политизированную форму. Не всегда задачи биоэтики понимаются и учеными, которые видят в биоэтике источник всевозможных запретов и препятствий на пути прогресса научных исследований.

Автор ставит своей задачей обосновать тезис: применение биоэтических технологий, которые в нашей стране обычно обозначаются как технологии социогуманитарной экспертизы (Вал. А. Луков, Б. Г. Юдин), является необходимым условием преобразования открытий и изобретений, совершаемых в научных лабораториях, в востребованные обществом социально ответственные инновации.

Решение поставленной задачи предполагает обсуждение нескольких ключевых тем:

- междисциплинарная диагностика, оценка и разработка методов купирования социогуманитарных рисков, связанных с практической реализацией научных открытий и изобретений, осуществляемая философами (биоэтиками), политиками, юристами, богословами, психологами, представителями других социогуманитарных специальностей и общественности;
- трансляция результатов социогуманитарной экспертизы в сферу принятия решений на разных социальных уровнях от государственного (законодательного) до уровня исследовательских и практических (медицинских, правоохранительных, биотехнологических и др.) организаций, создающая режим ответственного применения инновационных технологий;
- мониторинг последствий (в том числе и отдалённых) практического использования инновационных технологий и эффективности регламентов их этического, правового и административного контроля.

Социогуманитарная экспертиза, обеспечивающая преобразование научных открытий и изобретений в приемлемые для общества и востребованные им инновации, функционирует в двух относительно изолированных режимах, связанных с особенностями функционирования общества в целом: стационарном режиме мирного сообщества и нестационарном режиме чрезвычайных ситуаций (пандемий, природных катастроф, военных действий). Для каждого из режимов характерен свой этос функционирования. Для стационарного режима мы имеем установку на сочетание индивидуальных и социальных ценностей и интересов. В нестационарном режиме социальные ценности и интересы приобретают приоритетное значение. Соответственно, в зависимости от режима общественного функционирования меняются цели и задачи социогуманитарной экспертизы (биоэтики). Преобразование открытий и изобретений в инновации приобретает качественно различную форму. При этом возможны гибридные формы функционирования.

КРУГЛЫЙ СТОЛ 2:

Вопросы генетического, биотехнологического
и селекционного образования в Российской Федерации

ROUND TABLE:

Issues of Genetic, Biotechnological and Breeding
Education in the Russian Federation



Сотрудничество кафедр генетики МГУ и СПбГУ: опыт и перспективы

И.С. Бузовкина¹, Л.Н. Нефедова², Е.И. Рогаев², А.А. Нижников¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

i. buzovkina@spbu.ru

В настоящее время идет бурное развитие молекулярной генетики и комплекса связанных с ней научных дисциплин (биоинформатика, геновая и геномная инженерия, омиксные технологии), однако внедрение передовых научных достижений в педагогический процесс происходит с некоторой задержкой. Этот эффект во многом связан с тем, что преподаватели не могут быть специалистами во всех направлениях, а неспециалисты зачастую не могут на высоком уровне дать студентам новый материал. Кроме того, в университетах, в конкретных научно-педагогических коллективах существуют свои школы, свои особенности преподавания. Для студентов очень важно на своем пути встречаться с разными преподавателями, так как каждый из них несет кроме знаний и конкретный подход к предметам и подаче материала. Если же выпадает возможность встречи с другой школой — это расширяет мировоззрение и студента, и научного сотрудника, и преподавателя. Творческое взаимодействие между кафедрами генетики МГУ и СПбГУ (ЛГУ) сложилось давно, оно претерпевало и этапы прочных контактов, и стадии некоторого затухания. Но всегда со стороны обеих кафедр было стремление к поддержанию и развитию подобного взаимодействия. Так, в конце XX века проходили совместные семинары двух кафедр по преподаванию генетики, также студенты кафедры генетики МГУ приезжали в Ленинград (Санкт-Петербург) на летнюю практику, а студенты ЛГУ периодически посещали кафедру генетики МГУ и научные институты Москвы. В XXI веке появился опыт чтения лекций сотрудником одного университета на базе другого. К сожалению, по разным причинам, такая форма контактов носила разовый характер и пока не стала постоянной.

С развитием новых информационных технологий открылись и новые возможности. Кафедры генетики СПбГУ и МГУ провели две серии научно-образовательных семинаров как с привлечением сотрудников обоих университетов, так и других высших учебных заведений и научных институтов России в формате очно-дистанционных встреч. Первый семинар на тему «Модельные объекты в генетике» состоялся весной 2023 года, заседания проходили раз в неделю, одиннадцать специалистов прочитали лекции для студентов и сотрудников университетов. Этот успешный опыт позволил уже осенью 2023 года запустить новую серию докладов в рамках научного семинара «Палеогенетика», посвященного этой бурно развивающейся области генетики. За семь дней в очно-дистанционном формате выступили восемнадцать специалистов (генетики, ботаники, зоологи, палеонтологи, археологи). Этот уникальный семинар позволил встретиться и обсудить исследования специалистам разных научных направлений, а преподавателям и студентам — получить знания в новом для них направлении.

В целом, можно констатировать, что развитие сотрудничества между педагогическими коллективами кафедр генетики СПбГУ и МГУ позволяет добиться объединения специалистов, представляющих различные педагогические школы и научные направления, и сгенерировать междисциплинарные научно-образовательные семинары, дающие уникальные знания и навыки участникам и доступные им как в очном, так и в дистанционном формате.



Непрерывная подготовка кадров в области селекции — путь к сохранению селекционных школ

Е. В. Журавлева¹

¹ ГК ЭФКО

zhuravla@yandex.ru

Селекция является одной из профессий, где в настоящее время наблюдается нехватка высококвалифицированных кадров. Это связано как с достаточно большой трудоемкостью, сложной материально-технической базой, необходимостью большого количества полевых работ, так и с низкой популярностью профессии селекционера среди школьников. В целях развития системы непрерывного аграрного образования, повышения степени осознанного выбора профессий сельскохозяйственной направленности и уровня общеобразовательных знаний учащихся школ, в разных регионах России проводится большая работа по вовлечению учащихся в тематику агробиологии и стимулирование осознанного выбора профессии. Это и такие проекты, как академические и аграрные классы, всевозможные кружки и иные активности.

Так, в ряде регионов действуют Агроклассы, создание которых является частью развития системы непрерывного аграрного образования и расширения сферы сотрудничества аграрных университетов и сельских школ. По завершению обучения в Агроклассе выпускники получают сертификат об окончании и рекомендации для поступления в академию по выбранному профилю.

Занятия в Агроклассах проводятся несколько раз в месяц на базе сельскохозяйственных академий и университетов по курсам, разработанным преподавателями, обеспечивающими углубленное изучение отдельных предметов и ориентированным на выбор профильной направленности: «Введение в специальность», «Практическая биология», «Прикладная физика», «Опытническая работа», «Химия в сельском хозяйстве». Занятия в Агроклассах ведут кандидаты и доктора наук, имеющие большой опыт работы и занимающиеся научно-исследовательской работой. Профорientационная деятельность со школьниками возможна и с помощью региональных проектов «Развитие модели научно-технологических классов» («Академический класс»). Такие классы успешно были открыты в Москве и Белгородской области. Основные функции команды проекта заключаются в погружении школьников в научно-исследовательскую и проектную деятельность с целью осознанного выбора современных профессий в наукоемких отраслях экономики, прежде всего — в селекцию. Участники проекта получают возможность осваивать современные методы научных исследований, самостоятельно приобретать новые знания и работать в школьных научных обществах под руководством известных ученых.

Цель проекта — создание максимально благоприятных условий для выявления и обучения талантливых детей, их ориентации на построение успешной карьеры в области селекционной науки.



Преподавание генетики в школе. Современные подходы

Е. В. Самбук¹, А. М. Румянцев¹, Е. М. Чекунова¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

esambuk@mail.ru

Генетика — наука, изучающая основные свойства живых организмов — наследственность и изменчивость, как никогда актуальна в наши дни. На успешное решение задач в этой области направлены Указ Президента Российской Федерации от 28.11.2018 г. № 680 «О развитии генетических технологий в Российской Федерации» и Федеральная научно-технологическая программа генетических технологий на 2019–2027 гг. Одна из главных задач Программы — подготовка высококвалифицированных кадров в области генетики, в том числе — подготовка молодых специалистов и переподготовка кадров педагогов в средней школе. В целом, генетическое образование является важнейшим направлением в любой современной модели образования, а научные достижения страны в области генетики — это залог ее выживания и развития в будущем мире. Генетика и смежные области биологии сейчас развиваются необычайно динамично. Поэтому важным для обучающихся становится не только получение современных знаний в области генетики, но и понимание перспектив и основных направлений её развития, а также подготовка к вызовам будущего. При этом генетика была и остаётся наукой, необычайно связанной с практикой и экспериментальной работой. Для обеспечения современного генетического образования недостаточно переподготовки учителей и модернизации школьной программы. Новые качественные улучшения в подготовке учеников возможны лишь при объединении усилий средней и высших школ и привлечении к обучению исследователей, непосредственно работающих в различных областях генетики. Такой подход позволит не только повысить уровень образования, но обеспечить возможность проведения практических занятий, а также накопления материалов и коллекций для них. Обучающиеся смогут получить навыки научной работы, выполняя экспериментальные генетические исследования, которые за счёт связи с исследованиями с их руководителями будут иметь научную ценность и реальное практическое значение. Подобный подход решает и проблему профориентации школьников. Работа в школьной лаборатории позволяет находить и поддерживать талантливых ребят, склонных к научной деятельности, и помогать им выбрать тот путь обучения в вузе, который позволит максимально реализовать способности молодого человека.



Необходимость усиления роли генетической логики в современном преподавании генетики

О.Н. Тиходеев¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург
tikhodeyev@mail.ru

В последнее время наблюдается печальная тенденция подмены генетической логики анализом ДНК. Во многих курсах, посвященных генетической тематике, основное внимание уделяют молекулярным механизмам, а суть генетических явлений уходит на второй план или зачастую вовсе размывается. В результате такие курсы постепенно трансформируются из генетических в молекулярно-биологические и в конечном итоге утрачивают свою специфику. Уже сегодня среди студентов и молодых специалистов устойчиво бытует мнение о том, что главными генетическими подходами являются секвенирование, полимеразная цепная реакция и т. п. При попытках самостоятельно спланировать эксперимент подавляющее большинство молодых генетиков думает о различных методах анализа ДНК, совершенно забывая о гибридологическом анализе. Между тем, именно гибридологический анализ составляет основу всей генетической логики. Идея о том, что логика гибридологического анализа напрямую переходит в логику анализа ДНК, а значит, можно ограничиться только последней, в корне ошибочна и ведет к глубоким заблуждениям. В частности, известны многочисленные примеры, когда гены, вычленимые в тесте на аллелизм (т. е. на основе формально-генетического анализа), принципиально отличны от генов, контролирующих тот же признак, но выявляемых непосредственно при анализе ДНК. Постепенно становится все более и более очевидным, что роль эпигенетических наследственных задатков, где существенная часть наследственной информации записана теми или иными неканоническими символами (т. е. не нуклеотидными последовательностями ДНК), сопоставима с ролью сугубо ДНКовых задатков. Стремительно накапливаются данные о том, что наследоваться могут и некоторые изменения, традиционно рассматриваемые в качестве модификаций (т. е. изменений, обусловленных внешней средой). Причем некоторые задатки подобного рода имеют важное значение для биотехнологии и селекции. Все это требует от курсов современной генетики, селекции, агробиотехнологии и т. п. глубокого переосмысления привычных канонов. Особенно с учетом того, что эти каноны сложились более полувека тому назад и уже не охватывают всю генетическую фактологию. Именно логика формально-генетического анализа должна быть основой современного генетического образования с обязательным привлечением молекулярно-биологических подходов, но лишь в качестве способа проверки выдвигаемых гипотез.

КРУГЛЫЙ СТОЛ 3: История генетики

ROUND TABLE 3: The History of Genetics



Н. И. Вавилов. Экспедиция на Кавказ и в Закавказье в 1934 г. Новые источники

Т.Б. Авруцкая¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им.Н.И. Вавилова РАН,
Москва
tata221151@mail.ru

Первое географическое путешествие Н. И. Вавилова состоялось в июле 1908 г. Студенческая экскурсия на Кавказ была организована Кружком любителей Естествознания Московского сельскохозяйственного института. К изучению Кавказа Вавилов возвращался на протяжении всей своей жизни. Его путешествия завершились циклом кавказских экспедиций 1934–1940 гг. Альбом под названием «Экспедиция на Кавказ и в Закавказье. 1934 г. июль–август» оказался удивительной и весьма информативной находкой [1]. Он дал наглядное представление о ее участниках — акад. Н. И. Вавилов, проф. Меллер, проф. Офферман, проф. Туманян. В альбоме приведена красочная схема маршрута и его протяженность. Далее на страницах альбома представлены фотографии тех мест и учреждений, которые посетили участники поездки. Большой удачей стала находка письма одного из участников экспедиции, американского генетика Германа Меллера, в котором он упоминает об этой поездке. «Это была самая интересная и самая напряженная поездка. Мы ехали всю ночь, прибыв в Краснодар в 8 утра. Мы задыхались и покрывались пылью, так как дождя не было, а на вторую машину попадает вся пыль от первой, ей приходится держаться достаточно близко позади, чтобы видеть, куда ехать. Вавилов продолжает оставаться сверхчеловеком в своей деятельности, ложась спать на несколько часов позже нас и вставая на несколько часов раньше». Меллер описывает свои многочисленные доклады в институтах и на опытных станциях, которые переводил Вавилов. «Мне не терпится поскорее познакомиться со степным регионом, как и поездкой в горы». Меллер упоминает также о встречах в Киеве с И. Аголом и «его приглашение приезжать для консультаций раз в два месяца, прилетая на самолете» [2]. Цитаты из письма являются свидетельством того, что каждая поездка стоила Вавилову и его коллегам огромных физических и моральных сил. В поездке, в глухих уголках и малодоступных горных районах, было открыто огромное богатство видов и эндемичных сортов. Находки зарослей дикорастущих злаков, изобилие пшеницы-однозернянки и двузернянки, однолетней дикой ржи, видов пырея. У Лори было найдено поле с полбой. В отчете за 1934 г. Н. И. Вавилов приводит результаты этой экспедиции — «проведена экспедиция в Закавказье и на С. Кавказ с целью дифференцированного изучения географии культурных растений и близких к ним диких родичей. Результаты сообщены на сессии Академии наук СССР «Закавказье как один из мировых очагов видообразования культурных растений» [3].

[1] Из фондов Мемориального кабинета-музея Н. И. Вавилова.

[2] Из личного архива Д. Меллера.

[3] Н. И. Вавилов. Научное наследие. Из эпистолярного наследия. 1929–1940. — М.: Наука. 1987. — С. 265



«...Забвения хромосом нам не нужно...» О двух малоизвестных докладах Г. Д. Карпеченко

М. А. Вишнякова¹

¹ Федеральный исследовательский центр, Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени
Н. И. Вавилова

m.vishnyakova@vir.nw.ru

К 125-летию Г. Д. Карпеченко

В середине 1930-х гг. в СССР была развернута жестко контролируемая партийным руководством научная дискуссия по вопросам генетики. Ее кульминацией стала IV сессия ВАСХНИЛ в декабре 1936 г., главной темой которой были «Спорные вопросы генетики и селекции». Эта сессия стала первой публичной дискуссией генетиков и их противников, подтвердившей, что симпатии власти находятся на стороне лысенковцев. Сессии предшествовали и за ней последовали серии арестов ученых и администраторов науки. Однако сопротивление генетиков на этой сессии не было сломлено.

Основные доклады делали Вавилов, Лысенко, Серебровский и Меллер. В выступлениях по докладам в числе вировцев (Левитский, Розанова, Синская, Шлыков и др.) слово имел и Г. Д. Карпеченко. В своем выдержанном докладе он подверг критике взгляды Лысенко и Презента на наследственность, на их нежелание признавать ее материальные основы — хромосомы и гены. Отмечая выступление в прениях сотрудника Одесского института, предложившего забыть генетику, Менделя, Моргана и т. п., Г. Д. Карпеченко сказал: «...забвения хромосом нам не нужно, ... управление поведением хромосом, а вместе с ним и расщеплением, открывают нам новые возможности в селекционной работе» (Спорные вопросы генетики и селекции, 1936).

За месяц до сессии 19 ноября 1936 г. в ВИРе состоялось заседание ученого совета, где Георгий Дмитриевич делал ключевой доклад в рамках этой же дискуссии. Ему было поручено высказать позицию генетиков ВИР о двух статьях Лысенко, опубликованных в журнале «Социалистическая реконструкция сельского хозяйства» № 10 и в газете «Социалистическое земледелие». В стенах родного института Георгий Дмитриевич был более категоричен. Он привел множество генетических фактов, полученных учеными мира и в ВИРе о природе и механизмах наследственной изменчивости. Эти факты развенчивали антинаучные сентенции Лысенко, и Г. Д. Карпеченко закончил свой доклад словами: «Так вот, Трофим Денисович из современного учения о наследственности не усвоил ничего. И теория его... при ознакомлении с самыми элементарными генетическими фактами проявляет свою полную несостоятельность».

В заключительном слове Г. Д. Карпеченко, упомянув достоинства некоторых агрономических разработок Лысенко (яровизацию, учение о стадийном развитии), еще раз подчеркнул: «...в области генетики Трофим Денисович, в особенности в связи с последней статьей, где он написал, я скажу прямо, ерунду, имеет много слабых сторон. Такого рода статья его нисколько не украшает. ...Вы недооцениваете огромную науку, которая обладает колоссальным фактическим материалом, Вы ее совершенно не используете» (ЦИАНТД СПб, Фонд 318 д. 1133).



История ВНИИСХМ в годы Великой Отечественной войны

М.Л. Гордон^{1 2}

¹ ВНИИСХМ, Санкт-Петербург

² ВИР, Санкт-Петербург

m.gordon.zelenoborsky@gmail.com

Всесоюзный научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии (ВНИИСХМ) был образован на базе отдела сельскохозяйственной микробиологии Государственного института опытной агрономии (ГИОА) 3 мая 1930 года в ходе образования ВАСХНИЛ (Сельхозакадемии). Фактический адрес остался неизменным — ул. Герцена 44 (дореволюционное название улицы — Большая Морская).

В период с 1930 по 1940 годы в составе института находятся 7 лабораторий: бактериальных удобрений, почвенной микробиологии, микробиологии кормов, бактериологического метода борьбы с грызунами, биологической обработки технических культур, виноделия, музей живых культур.

Тематический план института за довоенный период включает широкий круг научных задач. В частности, работа по микробиологической оценке почв, методы силосования кормов, применение заквасок для силосования, микробиологическая составляющая при вымачивании льна, применение биологических агентов для уничтожения насекомых. При институте организуется производство нитрагина — удобрения для бобовых растений, ключевым компонентом которого являются клубеньковые бактерии.

С первых дней войны деятельность института перестроена под запросы военного времени. Директор института Л.М. Доросинский мобилизован, оперативное управление осуществляет Е.Н. Кирьялова. Институт фокусируется на азотогене, нитрагине, и испытаниях препарата АМБ, необходимых для оптимизации использования азотных удобрений при дефиците химического сырья для их изготовления. Ведётся работа по борьбе с грызунами и закваски для заготовки силоса. Сотрудники участвуют в обороне города.

Штат сотрудников сократился более чем в половину: с 68 человек на начало 1941 года до 38 человек в октябре 1941. С середины июля 1941 началась подготовка к эвакуации. Институт эвакуировался без оборудования и имущества, в несколько этапов. Большая часть сотрудников первую блокадную зиму провели в Ленинграде. Музей живых культур остаётся в осаждённом Ленинграде в законсервированном состоянии.

Эвакуация осуществлялась в посёлок Фалёнки, Кировской области, в здание селекционной станции. На месте эвакуации отсутствовали условия для лабораторной работы. Все полевые опыты в Ленинградской области были потеряны. Потребовалось проводить их заново, а также выделять некоторые типы микроорганизмов из местных почв.

Возобновляется работа по наиболее важным темам, которые возможно вести в условиях эвакуации — оптимизация производства и применения азотобактерина и нитрагина, а также технологий ферментативной мочки льна и использования заквасок для силосования. Сотрудники института активно ведут просветительскую работу, выступают с докладами, публикуют наставления и инструкции для работников сельского хозяйства. Отношения с местными властями изначально были сложными, однако к 1943 году областной комитет ВКП(б) отмечает заслуги института в помощи хозяйствам Кировской области. К моменту реэвакуации института в Ленинград власти Кировской области предложили основать филиал института.

Реэвакуация в Ленинград после снятия блокады сопровождалась многочисленными трудностями. Фактическое возвращение сотрудников произошло в сентябре 1944 года. Однако власти города до января 1945 отказывали в регистрации штата, что не позволяло вести нормальную деятельность института и выплачивать зарплаты сотрудникам.

По возвращении в Ленинград коллективом было проведено обследование коллекции микроорганизмов, выявившее её плачевное состояние. Многие культуры были утеряны.

Несмотря на все испытания военного времени, условия эвакуации и административное давление, коллективу ВНИИСХМ удалось сохранить ключевые научные направления института, что позволило перейти к восстановлению полноценного спектра тем по окончании войны.



Хронологическая точка отсчета российской генетики

А.И. Ермолаев¹

¹ Санкт-Петербургский филиал Института истории естествознания и техники им. С.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербург
yamamura@yandex.ru

Относительно начала российской генетики есть две основные точки зрения. Одни [1] отсчитывают историю отечественной генетики (как и международной) от 1900 г. Другие [2] связывают начало ее с деятельностью Ю. А. Филипченко, Н. К. Кольцова и Н. И. Вавилова, а реперной точкой считают 1919 г. — организацию первой в стране кафедры генетики.

Я предлагаю за точку начала российской генетики принять 1913 год. До этого в основном шла полемика К. А. Тимирязева с менделистами. А в 1912–1914 г. сразу же произошло много событий. Например, московское книгоиздательство «Наука» выпускает в 1913 г. одну за другой три книги, посвященные менделизму [3], что недвусмысленно свидетельствует о появлении огромного интереса русских биологов к новым направлениям в изучении явлений наследственности. В 1914 г. появляется первая оригинальная русская сводка по менделизму [4].

Начало кипучей деятельности молодого приват-доцента Петербургского университета Ю. А. Филипченко также датируется 1913 г. В самом начале этого года в журнале «Русское богатство» появляются его первые статьи, посвященные вопросам наследственности, а 18 сентября 1913 г. Ю. А. Филипченко начал в Петербургском ун-те чтение курса «Учение о наследственности и эволюции». Он считается первым в России курсом генетики, хотя годом ранее (в 1912/1913 уч. г.) приват-доцент Новороссийского университета А. А. Сапегин начал читать новый курс о законах наследственности в растительном мире, а Н. К. Кольцов по некоторым данным читал лекции по генетики еще в 1908 г. на женских курсах. Но знаковым событием все равно остается курс Филипченко.

Процесс этот, естественно, затрагивал не только столицы, но и провинцию. Например, 4 апреля 1913 г. лаборант Ботанической лаборатории Казанского университета В. И. Смирнов, проходя испытания на звание приват-доцента, выбрал темой для своей лекции «Новейшие законы наследственности» [5].

- [1] Гайсинович А. Е. Зарождение и развитие генетики. — М.: Наука, 1988. — 424 с.
- [2] Захаров И. А. Генетика в XX веке. — М.: Наука, 2003. — 77 с.; Инге-Вечтомов С. Г. Ретроспектива генетики. — СПб., 2015. — 336 с.
- [3] Пеннет Р. Менделизм. — М., 1913. — 192 с.; Донкастер Л. Наследственность в свете новейших исследований. — М., 1913. — 150 с.; Корренс К. Новые законы наследственности. — М., 1913. — 118 с.
- [4] Богданов Е. А. Менделизм или теория скрещивания. — М., 1914. — 625 с.
- [5] Ермолаев А. И. Этапы становления и развития генетики в Казанском университете // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. 2017. — Т. 159, кн.2. — С. 179–205.



Н. И. Вавилов на Брянской земле. Великокняжеское имение Брасово — место памяти учёного

Г. И. Ерофеева¹

¹ *Брянск; Брянский государственный краеведческий музей, ФГБОУ ВО «Брянский государственный инженерно-технологический университет». nosoreva1987@mail.ru*

Без изучения и сохранения исторического прошлого науки невозможно её дальнейшее развитие. Научное наследие учёных это достояние нации, особый социокультурный феномен отечественной истории, поэтому обращение к страницам их биографии является очень важным и нужным. Среди выдающихся учёных-генетиков особое место занимает Н. И. Вавилов. С его жизнью и научной деятельностью связаны многие уголки России — Москва, Санкт-Петербург, Саратов, Кавказ и др. Это «места памяти» учёного (Мемориальный кабинет-музей Н. И. Вавилова — ФГБУН «Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова»; Кабинет-музей им. Н. И. Вавилова — РГАУ — МСХА имени К. А. Тимирязева; Мемориальный кабинет-музей Н. И. Вавилова — Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова; Мемориальный кабинет-музей Н. И. Вавилова — Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н. И. Вавилова; Саратовский областной музей краеведения; Музей Майкопской опытной станции ВИРА).

Еще на заре своей научной деятельности Николай Иванович много ездил по стране, побывал он и на Брянской земле.

В Саратовском областном музее краеведения хранятся записные тетради Н. И. Вавилова с учебными и рабочими записями (1908–1918 гг.) [1]. Во второй тетради (СМК 77188/2) говорится об экскурсии студентов Московского сельскохозяйственного института, организованной летом 1909 года. Среди объектов посещения значатся и владения великого князя Михаила Александровича — Брасово (Орловская губерния, теперь Брянская обл.) и Дерюгино (Курская губерния, теперь Курская обл.). Выбор хозяйств был сделан неслучайно. Михаил Александрович являлся крупнейшим помещиком Российской империи. Его имения по праву можно было отнести к усадьбам, представлявшим собой центры естественно-научных знаний дореволюционной России. Брасово являлось ярким примером поместья, в основе ведения хозяйства которого лежал научный подход. Руководство имения сотрудничало со многими известными учёными.

Посещая производственные объекты (заводы, фабрика), опытные хозяйства Брасово и Дерюгино, Вавилов делал пометки в тетради. Встреча студентов, экскурсии — все это было организовано при деятельном участии главноуправляющего имений, известного ученого, агронома И. Н. Клингена. И. Н. Клинген — выпускник Петровской земледельческой и лесной академии, специалист по субтропическим культурам, действительный член Русского географического общества, автор капитального трёхтомного труда «Среди патриархов земледелия народов Ближнего и Дальнего Востока: Египет, Индия, Цейлон, Китай и Япония», инициатор создания Безенчукской удельной опытной станции (теперь Самарский НИИСХ им. Н. М. Тулайкова). Несомненно, сотрудничество с таким знатоком опытного дела, как И. Н. Клинген, дало молодому ученому прекрасную возможность ознакомиться с передовыми методами ведения сельского хозяйства.

В 2019 г. Брасовская усадьба была включена в туристический проект «Императорский маршрут». В настоящее время ведутся реставрационные работы, в дальнейшем планируется открытие музея, в экспозиции которого будет отражено такое важное событие, как приезд Н. И. Вавилова. Брасово станет ещё одним из «мест памяти» этого выдающегося учёного.

[1] *Пантеева Н. М., Рязанцев Н. В. Научно-исследовательская, учебная и общественная деятельность Н. И. Вавилова в 1908–1918 гг.: новые материалы к биографии учёного // Известия Тимирязевский сельскохозяйственной академии. 2016.*



О генетике и генетиках в дневнике Ф. Г. Добржанского

М. Б. Конашев¹

¹ Санкт-Петербургский филиал Института истории естествознания и техники им. С. И. Вавилова РАН

mbkonashev@mail.ru

Феодосий Григорьевич Добржанский (Th. Dobzhansky, 1900–1975), русский (советский) и американский генетик, эволюционист и гуманист. Добржанский родился в г. Немирове, Подольской губернии Российской империи, закончил Киевский университет. В 1920-е гг по приглашению Ю. А. Филипченко, заведующего первой в стране кафедры генетики Ленинградского государственного университета, работал на этой кафедре. В декабре 1927 г. в качестве стипендиата фонда Рокфеллера отправился на стажировку в лабораторию Т. Х. Моргана в США. В 1931 г. после долгих и мучительных раздумий принял решение остаться там, в 1936 г. стал американским гражданином.

Всю свою жизнь, с юношеского возраста, Добржанский вёл дневник, который представляет собой уникальный источник по истории эволюционной биологии XX в., в особенности эволюционной генетике. В дневнике имеется ряд записей о генетике и генетиках, в т. ч. о советской генетике и советских генетиках, с которыми Добржанский встречался на международных генетических конгрессах и переписывался сначала с 1928 по 1934 г., а затем с 1958 по 1975 г. Основными его корреспондентами в СССР были Ю. А. Филипченко, Н. И. Вавилов, Г. А. Левитский, Г. Д. Карпеченко, Б. М. Завадовский, Ю. Я. Керкис, Н. Н. Медведев, А. С. Серебровский, Н. П. Дубинин, Б. Л. Астауров, Д. К. Беляев, Н. Н. Воронцов, Ж. А. Медведев, В. Н. Сойфер. Но большая часть записей в дневнике о генетиках американских, бразильских, французских, из других стран. С ними он либо сотрудничал, либо также встречался на международных генетических конгрессах, генетических конференциях и симпозиумах, во время своих экспедиций и поездок для чтения лекций и по другим причинам в целый ряд стран, в т. ч. в Австрию, Австралию, Великобританию, Германию, Данию, Индию, Новую Зеландию, Финляндию, Японию. Добржанский часто посещал лаборатории, знакомился с исследованиями. Среди наиболее часто упоминаемых в дневнике такие генетики, как Л. К. Данн, М. Демерек, А. Э. Мирский, М. М. Роудс, Э. Безигер, К. Паван, А. А. Буццати-Траверсо, Б. С. Эфрусси.

Дневник хранится в Библиотеке Американского философского общества (APSL).

Первая часть дневника («Я пишу эти строки в тот момент...»). Дневник Ф. Г. Добржанского, 1934–1975 годы. Часть 1. Переписка 1934–1954 годов) подготовлена к печати, вторая («Я пишу эти строки в тот момент...»). Дневник Ф. Г. Добржанского, 1934–1975 годы. Часть 2. Переписка 1954–19754 годов) в процессе подготовки.



Глазами молодых: наука в годы Великой Отечественной войны в проекте аспирантов ВИР имени Н. И. Вавилова «Марафон Победы»

Т. В. Семилет¹, А. А. Леншин¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова», Санкт-Петербург

semilet_tatyana@mail.ru

Федеральный исследовательский центр «Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова» (ВИР) является одним из крупнейших и старейших научных учреждений России. В годы Великой Отечественной войны многие сотрудники головного института и филиалов ушли на фронт, часть уехали в эвакуацию, сопровождая Вавиловскую коллекцию, а часть осталась в блокадном Ленинграде. О подвиге ВИРовцев в блокадном городе написано много газетных статей и снято видеосюжетов, есть даже фильмы. Ученые института (И. Г. Лоскутов, Н. П. Лоскутова, М. А. Вишнякова, И. В. Котелкина и другие) провели большую работу по увековечиванию памяти об этих людях. Однако о других сотрудниках-ученых, ушедших на фронт, вернувшихся и продолживших работу в ВИРе, нет информации в широком общественном пространстве.

В 2023 году в ВИРе был инициирован поисково-патриотический проект Марафон Победы, который нашел большой отклик как у молодого поколения, так и у старшего. Аспиранты ВИР подготовили более 30 сообщений о ВИРовцах-участниках Великой Отечественной войны. Эти сообщения стали результатом большой поисковой работы ребят вместе с сотрудниками архива ВИР, редакционно-издательского отдела, Научной сельскохозяйственной библиотеки ВИР в Санкт-Петербурге и библиотек в филиалах, а также сегодняшние ученые, поделившиеся материалами и воспоминаниями о старших коллегах, с которым им довелось работать. Некоторым аспирантам удалось поработать в городских архивах в регионах, где находятся опытные станции ВИР, и встретиться с родственниками героев своих сообщений.

В период с 9 мая по 22 июня 2023 года аспиранты выступили с сообщениями, продемонстрировав подготовленные презентации. Марафон Победы закончился 22 июня. Его слушателями в офф и онлайн форматах стали более 250 человек в разных регионах России.

Аспиранты ВИР в своей поисковой деятельности соприкоснулись с историей Института, буквально взяли в руки личные дела старших ВИРовцев — поняли, какое продолжение получает их работа сегодня, и как важна преемственность в науке.

Все материалы опубликованы в отдельной рубрике на сайте ВИР имени Н. И. Вавилова: <https://www.vir.nw.ru/marafon-pobedy-vir-1941-1945/>. В 2024 г. планируется продолжение проекта — подготовка сообщений о других ученых ВИР-участниках Великой Отечественной войны, а также выступления аспирантов ВИР с уже подготовленными сообщениями перед школьниками.

III ФОРУМ
«Генетические ресурсы России»

THE 3RD FORUM
“Russian Genetic Resources”



Ботанические коллекции: что надо и что не надо регулировать

Д. В. Гельман¹

¹ Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург

geltman@binran.ru

Вопросы правового регулирования биологических (биоресурсных) коллекций активно обсуждались в последнее время, важнейшим результатом такого обсуждения стало внесение в Государственную Думу проекта Федерального закона «О биоресурсных центрах и биологических (биоресурсных) коллекциях», а также обсуждение подзаконных актов, которые должны быть приняты в развитие этого закона в случае его одобрения.

Очевидно, что почти полное отсутствие специального законодательства негативно сказывается на многих аспектах деятельности биологических коллекций, однако негативное воздействие может оказать и избыточное регулирование.

История развития ботанических коллекций в России насчитывает три века. За это время в профессиональном сообществе сложились традиции и стандарты работы с такими коллекциями. Иногда они находят отражение в локальных нормативных актах учреждений, имеющих коллекции, но чаще подерживаются по принципу «так всегда было». Очевидно, что «писаное» законодательство в сфере биологических (биоресурсных) коллекций по большей части должно основываться на уже существующих, по большей части «неписаных», традициях и стандартах.

Безусловно, ботанические коллекции (гербарии и связанные с ними коллекции, а также коллекции природной флоры ботанических садов) должны подлежать государственному учету. Государство в лице организаций — держателей коллекций должно их поддерживать и развивать; целесообразно на уровне подзаконных актов зафиксировать минимально необходимый уровень такой поддержки.

Непростым вопросом является обеспечение стандартов работы с коллекциями. По-видимому, в законодательстве должен быть определен необходимый минимум стандартизации, например, в ботанических садах должен обязательно вестись учет видового состава растений (иначе это не ботанический сад), следует определить необходимый набор требований к такому учету. Но вряд ли необходимо требовать использовать исключительно определенные формы или программное обеспечение. Для гербарных коллекций не следует регулировать требования к формату листов бумаги, способы монтировки, порядок расположения образцов и т. п., однако законодательно должны быть определены общие принципы доступа к коллекциям и основные правила работы.

Хотя фонды коллекций государственных учреждений должны относиться к государственной собственности, сами образцы ни в коем случае не должны стать предметом бухгалтерского (балансового) учета. Надо отметить, что соответствующие нормы имеются в законодательстве о музеях и архивах, и этот опыт должен быть распространен и на коллекции.

Сложным является вопрос и об обмене коллекционными образцами, в том числе и с зарубежными учреждениями. Безусловно, такой обмен должен быть взаимовыгодным. Но «выгода» не должна пониматься слишком прямо, т. е. обязательно «образец за образец». Например, безвозмездная отправка дублетного образца в зарубежный гербарий, где работает специалист по таксону, и получение взамен правильного определения является вполне взаимовыгодным вариантом обмена.

Для ботанических коллекций отдельным актуальным вопросом является регулирование сбора и культивирования образцов, занесенных в красные книги различных уровней. Существующее положение создает ряд препятствий, в том числе и для обеспечения научных исследований, целью которых является сохранение биологического разнообразия и даже разработка мер охраны таких растений.



Биобанкирование как инструмент для профилактики, диагностики и лечения генетических заболеваний

А.С. Готов^{1 2}

¹ ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта», Санкт-Петербург

² СПбГУ, Санкт-Петербург

anglotov@mail.ru

Нарушения репродуктивной функции оказывают существенное негативное влияние на демографическую стабильность общества. В связи с этим создание, пополнение и развитие биоресурсных коллекций, связанных с заболеваниями репродуктивной системы человека, представляет огромное фундаментальное и практическое значение.

Одним из наиболее перспективных направлений медицины в настоящее время, безусловно, является разработка и внедрение новых биомедицинских технологий в области репродукции человека, с привлечением ресурсов биобанков и биоресурсных коллекций, современных генетических технологий, в том числе, высокопроизводительного параллельного секвенирования, генной терапии, геномного редактирования, а также с использованием технологий искусственного интеллекта.

Высокая актуальность генетических исследований в репродукции человека послужили основой для создания на базе ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта» Биобанка «Генофонд» и УНУ «Репродуктивное здоровье человека» (биоресурсная коллекция). Данная коллекция является сетевой, и в ее пополнении, вместе с ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта», задействованы подразделения организаций партнеров — ФБНУ «МГНЦ» и БУ ВО «СурГУ». Коллекция на базе НИИ АГиР им. Д. О. Отта сегодня содержит более 56 тыс. образцов, среди которых образцы крови (плазмы, сыворотки, крови), мочи, плацентарной ткани, культур клеток, ДНК, РНК и других материалов человека. При развитии биоресурсной коллекции особое внимание уделяется менеджменту качества биообразцов, созданию баз данных результатов генетических исследований, поиску биомаркеров болезней человека, моделированию риска заболеваний, алгоритмам биоинформатического анализа генома. Отдельным направлением исследования с использованием образцов коллекции является анализ генетических причин заболеваний в конкретной семье с отягощенным анамнезом. Пополнение коллекции образцов позволяет существенно расширять сферу применения образцов и данных, необходимых не только для поиска новых диагностических подходов, мишеней и средств терапии и прогностических маркеров наследственных заболеваний; но и для развития средств генетического мониторинга распространенности нозологий в отдельных регионах, корреляция его с демографическими данными, оценки эффективности внедрённых диагностических, лечебных и профилактических мер, расчёта заболеваемости. Перспективное значение коллекция будет иметь для поиска новых ассоциаций генотип-фенотип, при создании новых баз данных, в контроле качества, в судебно-медицинской экспертизе, а также для разработки отдельных генно-терапевтических препаратов.



Российская коллекция типовых клеточных культур: настоящее и будущее

Н.А. Михайлова¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии Российской академии наук

natmik@mail.ru

Биоресурсные коллекции клеток человека и животных имеют большое значение для проведения фундаментальных и прикладных исследований в области молекулярной и клеточной биологии, биомедицины, создания клеточных и генетических технологий, а также для разнообразных междисциплинарных исследований. Ценность коллекций клеточных культур обусловлена не только числом и разнообразием клеточных линий, но и качеством имеющихся образцов. Крупнейшие клеточные коллекции в мире насчитывают тысячи паспортизованных типовых клеточных линий и являются центрами аккумуляции знаний в области получения, культивирования и хранения материала. В России первая Коллекция культур клеток позвоночных была создана в 1978 году на базе Института цитологии РАН. Коллекция ИНЦ РАН успешно развивается уже более 40 лет, а в качестве ЦКП Коллекция выполняет функции основного поставщика клеточных линий для учреждений РФ разной ведомственной принадлежности. Вместе с тем, остро стоит вопрос о создании национальной **сетевой Российской коллекции типовых клеточных культур (РКТКК)**, которая объединит существующие в РФ коллекции сходного типа, расширит фонды и улучшит качество образцов.

При поддержке Минобрнауки России, в рамках выполнения проекта № 15.БРК.21.0011 «Развитие коллекции культур клеток позвоночных в качестве базового депозитария Российской коллекции типовых культур (РТСС), для обеспечения национальной технологической независимости и биобезопасности» в 2021–2023 гг., участниками проекта (ИНЦ РАН, ИБР РАН, ИЦиГ СО РАН и ООО «Покровский банк стволовых клеток»), на принципах сетевого взаимодействия сходных по направлению коллекций, создана Российская коллекция типовых клеточных культур (РКТКК или РТСС).

Разработаны Положение и регламент работы Российской коллекции типовых клеточных культур (РКТКК). Данные документы определяют базовые принципы организации сетевого объединения коллекций сходного типа (культур клеток человека и животных), фонды которых доступны для заказа стандартных образцов сторонними организациями. С 2023 г. РКТКК функционирует в соответствии с Положением и Регламентом работы.

Создан сайт Коллекции типовых клеточных культур (РКТКК) <http://cellcollection.ru> и единый электронный каталог сетевой Коллекции, в котором пользователь может сформировать заказ — перечень клеточных линий содержит информацию о конкретной коллекции, входящей в РКТКК, в которой можно заказать образцы.

Разработана «Рамочная программа по микробиологическому контролю». Данная программа универсальна и может быть распространена в качестве методического руководства для коллекций — потенциальных участников РКТКК. Разработаны и применяются стандартные операционные процедуры (СОПы), используемые при получении, культивировании, криоконсервации и хранении образцов.

РКТКК в России — это самая крупная коллекция отечественных типовых клеточных культур. За 3 года коллекционный фонд сетевой Коллекции увеличен до 407 единиц паспортизованных клеточных линий за счет получения новых образцов коллективами Коллекций-участников проекта.

Планируется расширение сетевого взаимодействия РКТКК за счет вступления новых участников, держателей коллекций сходного типа.

Значение Российской Коллекции типовых клеточных культур состоит в расширении фондов отечественных образцов, необходимых для применения в различных областях биологии, биомедицины, биотехнологии, фарминдустрии и др.), а также повышении качества образцов и уровня проводимых фундаментальных и прикладных исследований.



Биоресурсные коллекции СПбГУ как пример междисциплинарных университетских коллекций

А. А. Нижников¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет (СПбГУ), Санкт-Петербург, Университетская наб. 7-9-11
a.nizhnikov@spbu.ru

Биоресурсные коллекции Санкт-Петербургского государственного университета имеют давнюю историю формирования: некоторые из них возникли в первой половине XIX века. В настоящее время биоресурсные коллекции СПбГУ состоят из ряда коллекций растений, животных и микроорганизмов как находящихся в живом разведении, так и представленных фиксированными образцами. В СПбГУ расположен один из крупнейших и старейших гербариев нашей страны (акроним ЛЕСВ), а также ботанический сад. Коллекции животных представлены зоологическими, гистологическими и палеонтологическими коллекциями, а также фонотекой голосов птиц, ресурсным центром «Биобанк» и виварием. Коллекции микроорганизмов состоят из коллекций культур цианобактерий, водорослей и паразитов водорослей (CALU), инфузорий и гетеротрофных протистов. Генетические коллекции СПбГУ представляют собой систему из семи генетически охарактеризованных коллекций растений, животных и микроорганизмов [1].

Таким образом, биоресурсные коллекции СПбГУ представляют собой крупный исторически сложившийся комплекс междисциплинарных коллекций, имеющий уникальную научную, образовательную и историческую ценность. В настоящее время прорабатывается возможность создания централизованного цифрового депозитария коллекций, идет активное изучение при помощи геномных и постгеномных подходов, а также пополнение существующих коллекций.

Работа выполнена при поддержке СПбГУ, шифр проекта 124032000041-1.

- [1] Andreeva, E.; Burlakovskiy, M.; Buzovkina, I.; Chekunova, E.; Dodueva, I.; Golubkova, E.; Matveenko, A.; Rummyantsev, A.; Tsvetkova, N.; Zadorsky, S.; Nizhnikov, A. (2023). Genetic Collections of St. Petersburg University // Biological Communications, 68(3), 199–214. <https://doi.org/10.21638/spbu03.2023.308>.



Коллекции генетических ресурсов растений Российской Федерации и Национальный биоресурсный центр по данному профилю

Е.К. Хлесткина¹

¹ ВИР, Санкт-Петербург

khlest@bionet.nsc.ru

В сообщении кратко приводятся основные сведения о коллекциях генетических ресурсов растений Российской Федерации, их ведущем месте среди аналогичных зарубежных коллекций и стратегической значимости для научно-технологического развития, продовольственной, экологической безопасности и технологической независимости нашей страны. Дается краткая справка о стандартах работы с коллекциями генетических ресурсов растений и значении развития деятельности соответствующих коллекций под эгидой Национального биоресурсного центра в данной сфере, созданного Указом Президента Российской Федерации № 44 от 8 февраля 2022 года «О Национальном центре генетических ресурсов растений». Обсуждаются перспективы развития научных исследований и практических разработок, основывающихся на использовании образцов коллекций генетических ресурсов растений, и необходимые правовые и нормативные основы для эффективного развития научной деятельности в данном направлении.

ТЕЗИСЫ ПОСТЕРНЫХ ДОКЛАДОВ

ABSTRACTS OF POSTER PRESENTATIONS

Симпозиум 1: **Репликация, транскрипция, трансляция**

Symposium 1: **Replication, Transcription, Translation**



The Interplay of 3' UTR Length and Stop Codon Identity in Translation Dynamics

A. Salman¹, E. Y. Shuvalova¹, N. S. Biziaev¹, E. Z. Alkalaeva¹

¹ *Engelhardt Institute of Molecular Biology, Moscow, Russia*

ali.mahmoud.salman1996@gmail.com

Translation termination, a crucial step in protein synthesis, is governed by molecular interactions between eRF1, eRF3a, stop codons, and mRNA elements such as poly(A) tail. However, the specific impact of 3' UTR length on translation dynamics of mRNA with different stop codons remains obscure. This study aims to elucidate the interplay between these factors, shedding light on their coordinated roles in translation efficiency and mRNA stability.

To evaluate the influence of the 3' UTR length on translation dynamics, Nano Luciferase reporter mRNAs harboring various 3' UTRs (0, 10, 30, 160 nt) and stop codons (UAA, UAG, UGA) with / without poly(A) tail were synthesized and subjected to translation assays in different lysates (RRL, HEK293F, HeLa, and WGE). While mRNA degradation rates were quantified using real-time PCR analysis with two pairs of primer (the first pair, binds specifically to the 5'-end of the mRNA and the second pair binds to stop codon). Subsequently, to evaluate translation termination efficiency in cell-free translation system, we used Termi-Luc assay. To perform this approach we obtained purified pre-termination ribosomal complexes (preTCs) in RRL at the stop codons of Nano luciferase coding sequence, and human eRF1 was employed to induce translation termination.

In various lysates, distinct translation profiles of model mRNAs were observed. In RRL translation rates of mRNAs lacking poly(A) tail increased with 3' UTR length, reaching a peak with a 160-nucleotide 3' UTR. Conversely, mRNA with the poly(A) tail exhibited a constant translation rate regardless of 3' UTR length. Other lysates showed 3' UTR-dependent translation rates, especially with short 3' UTRs, irrespective of poly(A) tail presence. Notably, mRNA lacking poly(A) and with the short 3' UTRs were unstable, while poly(A) stabilized all mRNAs, suggesting that translation efficiency in short 3' UTRs may be more influenced by stability than translation efficiency itself. Real-time PCR results indicated that mRNA stability is influenced by both 3' UTR length and poly(A) tail presence. Transcripts with a poly(A) tail generally exhibited higher stability across different 3' UTR lengths. However, the optimal stability condition may vary depending on the context. Termination rate showed dependence on 3' UTR length for UGA and UAA, regardless of eRF3a presence, while UAG exhibited weak dependence on 3' UTR length.

Our findings reveal a possible interplay between 3' UTR length, stop codon identity, and translation termination dynamics. Different stop codons exhibited variable effects on translation efficiency, with certain codons showing enhanced termination rates in specific 3' UTR contexts. Overall, our study provides valuable insights into the regulatory landscape of gene expression.

The study was supported by the Russian Science Foundation (Grant No. 23-24-00498, <https://rscf.ru/en/project/23-24-00498/>).



Влияние длины поли(А) хвоста мРНК на инициацию и терминацию трансляции эукариот

Н.С. Бизяев¹, А.В. Шувалов¹, Т.В. Егорова¹, А.Салман¹, Е.Ю. Шувалова¹, Е.З. Алкалаева¹

¹ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

nikita.biz@mail.ru

Поли(А) хвост играет важную роль в поддержании стабильности мРНК и влияет на эффективность трансляции эукариот. Основным белком-эффектором, обуславливающим функции поли(А) хвоста, является белок РАВР. Чем длиннее поли(А) хвост, тем больше молекул РАВР связаны с такой мРНК. Несмотря на свою значимость, влияние длины поли(А) хвоста на трансляцию клеточной мРНК остается до конца не изученным. Поэтому нами было проведено исследование влияния длины поли(А) хвоста на различные этапы эукариотической трансляции. Прежде всего нами была определена скорость трансляции мРНК с разными поли(А) хвостами в клеточном лизате НЕК293F. Несмотря на то, что кэп-зависимая трансляция стимулировалась поли(А) хвостом, она не зависела от его длины, за исключением поли(А) длиной 75 нуклеотидов. В этом случае мы наблюдали максимальную скорость трансляции. Напротив, для некэпированной мРНК скорость трансляции линейно увеличивалась по мере увеличения длины поли(А) хвоста, достигая максимума при самых длинных протестированных поли(А) хвостах. Детальное изучение стадий трансляции в *in vitro* реконструированной системе выявило зависимость как инициации, так и терминации, от наличия поли(А) хвоста. При этом удлинение поли(А) хвоста не влияло на эффективность инициации трансляции, что согласуется с наблюдениями в бесклеточной системе. Дальнейшее исследование терминации трансляции с использованием очищенных претерминационных комплексов выявило влияние длины поли(А) хвоста на связывание факторов терминации трансляции (eRFs) с рибосомой. Как было показано ранее, РАВР способствует связыванию факторов терминации трансляции с рибосомой на стоп-кодоне. Это объясняет эффект длины поли(А) хвоста в терминации трансляции. Основываясь на этих результатах, мы предполагаем ключевую роль 75-нуклеотидного поли(А) хвоста в формировании сложной closed-loop структуры, в которой одновременно пространственно сближены кэп, район стоп-кодона и поли(А) хвост. Мы предполагаем, что эта уникальная структура динамически и сложным образом связывает фазы инициации и терминации трансляции.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-00382, <https://rscf.ru/project/23-24-00382>.



Содержание мРНК генов, кодирующих метаболические и цитоскелетные белки в яичниках мыши после 96-часового моделирования эффектов невесомости

Н.С. Бирюков¹, Е.Ю. Горбачева¹, И.В. Огнева¹

¹ ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

biryukovns@gmail.com

Пребывание в условиях космического полета оказывает влияние на все системы организма, в том числе и на репродуктивную. Состояние органов половой системы чаще всего не является лимитирующим фактором освоения космического пространства, поэтому до настоящего времени внимание исследователей не было сосредоточено на ее изучении. В то же время, особенно для женского организма, функционирование органов репродуктивной системы обеспечивает не только сохранение вида, но и в значительной степени обуславливает здоровое старение. Увеличение доли женщин, которые совершили, по крайней мере, один космический полет, приводит к необходимости изучения влияния невесомости на женскую репродуктивную систему.

Целью исследования являлась оценка клеточного дыхания яичников мыши, определение относительного содержания белков, формирующих комплексы дыхательной цепи и основные структуры цитоскелета, и мРНК соответствующих генов после антиортостатического вывешивания в течение 96 часов (эстральный цикл).

После антиортостатического вывешивания мы наблюдали интенсификацию клеточного дыхания, в частности, максимальной скорости поглощения кислорода на 133% ($p < 0.05$) по сравнению с контролем за счет первого комплекса дыхательной цепи митохондрий. При этом возрастало содержание мРНК генов, кодирующих основные компоненты дыхательной цепи (сyt c — на 78%, соx IV — на 56%, АТРсинтаза — на 69%, $p < 0.05$ по сравнению с контролем). На этом фоне относительное содержание цитоскелетных белков, которые могут участвовать в процессах транспорта и локализации митохондрий, не меняется, за исключением увеличения содержания альфа-тубулина на 25%, ($p < 0.05$) и его ацетилированной изоформы (на 36%, $p < 0.05$) относительно контроля, однако содержание мРНК данных цитоскелетных генов не отличалось от контроля.

Такой паттерн белок-мРНК может свидетельствовать о регуляции содержания цитоскелетных белков на уровне трансляции/протеолиза. При этом антиортостатическое вывешивание большей длительности — 23 дня — приводит к изменению этого баланса: на фоне постоянного содержания цитоскелетных белков, содержание их мРНК становится выше, чем в контроле (Usik M. A., 2019), по-видимому, за счет эпигенетических событий, в частности установления гипометилированного статуса ДНК (Usik M. A., Ognеva I. V., 2019). Такая динамика свидетельствует о том, что снижение содержания мРНК генов, кодирующих цитоскелетные белки, в ткани яичников не приводит к фатальным последствиям, а разрешается в обратную сторону путем изменения эпигенетической регуляции экспрессии генов.

Более того, рассматривая экспрессию GDF9, который продуцируется ооцитом и регулирует рост клеток гранулезы как маркер состояния растущего ооцита, мы не обнаружили отличий между группой после 96-часового антиортостатического вывешивания и контрольной группой.

Суммируя полученные результаты, можно полагать, что кратковременная экспозиция мышей в условиях симулированной невесомости приводит, скорее, к усилению метаболизма тканей яичников на фоне изменения паттерна экспрессии ряда генов, но, безусловно, требует дальнейшего всестороннего изучения.

Работа поддержана программой фундаментальных исследований ГНЦ РФ — ИМБП РАН FMFR-2024-0041.



Клинический вариант праймазы-полимеразы PrimPol человека V102A с нарушенной каталитической активностью

Е.О. Болдино¹, А.Г. Барановский², Ю.В. Филина³, Р.Р. Мифтахова³, Я.Ф. Шамсутдинова⁴,
Т. Тагиров², А.В. Макарова¹

¹ Институт биологии гена РАН, Москва

² Eppley Institute for Research in Cancer and Allied Diseases, Fred & Pamela Buffett Cancer Center, University of Nebraska Medical Center, Omaha, USA

³ НИЛ «Трансляционная онкология» Институт фундаментальной биологии и медицины, Казанский федеральный университет, Казань

⁴ ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер Министерства здравоохранения Республики Татарстан имени профессора М.З. Сигала», Казань

lizaboldinova@yandex.ru

Праймаза/полимераза PrimPol человека из суперсемейства археозукариотических праймаз обладает ДНК-праймазной и ДНК-полимеразной активностями. Основной функцией PrimPol является перезапуск синтеза ДНК в местах блокирования репликации повреждениями или вторичными структурами ДНК. Дисфункция PrimPol в клетке приводит к замедлению репликации геномной и митохондриальной ДНК, накоплению хромосомных aberrаций. Показана связь между мутациями и полиморфизмами PRIMPOL с офтальмологическими и онкологическими заболеваниями. Кроме того, aberrантная экспрессия PRIMPOL или изменение структуры белка опухолей могут влиять на клинический прогноз, инвазию клеток и противоопухолевый иммунный ответ.

Мы впервые функционально охарактеризовали редкий миссенс-вариант PrimPol с заменой V102A (с.305T>C; rs142122035; MAF C=0,011223) и со статусом неопределенной значимости (VUS). Вариант был обнаружен у пациентов, страдающих раком яичников и шейки матки. Было показано, что замена Val102 на Ala резко снижает как праймазную, так и ДНК-полимеразную активности PrimPol *in vitro*, а также специфически подавляет способность включать рибонуклеотиды. Замена V102A не влияла на связывание PrimPol с ДНК. Таким образом, полиморфный вариант PrimPol V102A обладает резко измененными каталитическими свойствами, вероятно, влияющими на функции PrimPol *in vivo*. Вариант PrimPol с заменой V102A с биохимической точки зрения может быть охарактеризован как неблагоприятный. Конкретный клинический эффект варианта V102A требует дальнейшего изучения.

Остаток Val102 входит в состав гидрофобного кармана вблизи активного сайта, и замены других остатков, D114E и L115M также приводили к снижению каталитической активности PrimPol. Полученные результаты указывают на важность всей области 100–115 а.о. PrimPol для координации нуклеотидов при катализе.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 22-24-20150.



Использование метода VIGS для создания эпигеномных изменений на примере *N. benthamiana*

А.А. Болотина^{1,2}, А.В. Власова^{1,2}, И.В. Киров^{1,2}

¹ Московский физико-технический институт, Долгопрудный

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва

boloti.anya@yandex.ru

В современном мире активное распространение получают технологии создания новых генотипов растений без использования методов трансгенеза. Одной из таких технологий является вирус-опосредованный сайленсинг генов (VIGS), с помощью которого возможно получать наследуемые эпигенетические изменения [1]. Кроме того, выглядит возможным применение VIGS для активации мобильных элементов (МЭ) путём сайленсинга генов, участвующих в их эпигенетическом контроле [2]. Однако использование VIGS ключевым образом зависит от эффективности распространения вирусного вектора, в том числе в тканях апикальной меристемы (SAM), если необходимо получить наследуемые изменения [3].

Главным барьером для репликации и распространения вируса выступают защитные механизмы растений, в частности РНК-интерференция (RNAi), активируемая в ответ на присутствие вирусной двухцепочечной РНК (дцРНК). Чтобы избежать пути подавления, вирусы растений выработали механизмы, которые помогают им обойти противовирусную защиту растений, РНК-интерференцию, путем кодирования белков, называемых вирусными супрессорами сайленсинга РНК (англ. Viral Suppressor of RNA silencing, VSR) [3]. VSR могут ингибировать биосинтез мРНК, предотвращать сборку RISC, подавлять активность белков AGO, препятствовать амплификации сайленсинга и/или блокировать распространение сигналов сайленсинга. Использование вирусных векторов вместе с VSR может значительно повысить эффективность VIGS, в том числе в тканях апикальной меристемы растений.

Использование VIGS с целью активации МЭ может быть возможным при направлении его действия на компоненты РНК-зависимого метилирования ДНК (RdDM) — одного из главных механизмов подавления МЭ [2]. Ключевыми компонентами пути RdDM являются продукты генов *CMT3*, *NRPD1* и *RDR6*, участвующие в поддержании метилирования ДНК, транскрипции мобильных элементов и амплификации мРНК, важных для механизмов противовирусной защиты. Хотя к настоящему времени оценка изменений мобилома в ответ на VIGS компонентов RdDM не проведена, известно, что МЭ могут реактивироваться при их нокаутировании, что делает гены *CMT3*, *NRPD1* и *RDR6* потенциально эффективными кандидатами для сайленсинга [4].

С целью создания эпигенетических изменений нами был проведён VIGS на модельном объекте *N. benthamiana*. Для эффективного распространения эффекта VIGS в данной работе использовались вирусные векторы на базе вируса TRV (англ. Tobacco Rattle Virus) с различными VSR, в том числе белок 2b вируса мозаики огурца (англ. Cucumber Mosaic Virus, CMV) и белок P19 вируса кустистой карликовости томатов (англ. Tomato Bushy Stunt Virus, TBSV). В качестве целей для VIGS были выбраны гены *CMT3*, *NRPD1* и *RDR6* *N. benthamiana* как для совместного, так и индивидуального сайленсинга. Полученные результаты позволят провести оценку возможности создания эпигеномных изменений при помощи VIGS на примере *N. benthamiana*, а также возможность применения данной технологии для активации мобилома растений.

[1] Rössner C., et al., 2022. 73(1), p. 703–728.

[2] Kirov I. 2023. 24(23), p. 17054.

[3] Bradamante G., et al. 2021. 33(8), p. 2523–2537.

[4] Erdmann R. M., et al. 2020. 16(10), e1009034.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 22-64-00076.



Амилоид FXR1 – компонент нейрональных стресс-гранул

А.А. Валина^{1,2}, А.П. Галкин^{1,2}

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

² Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербург, Россия

annavalina@mail.ru

Амилоиды представляют собой белковые фибриллярные агрегаты, имеющие кросс-бета структуру *in vivo*. Амилоидные фибриллы были открыты в контексте патологий человека. Однако с каждым годом растет список так называемых функциональных амилоидов. Ранее в нашей лаборатории было показано, что белок FXR1 функционирует в нейронах головного мозга позвоночных животных в амилоидной форме [1]. Однако вопрос о функциональной роли формирования амилоидной конформации белком FXR1 в мозге остается открытым.

Известно, что FXR1 связывается с 3'-нетранслируемой областью мРНК млекопитающих, что способствует деградации или стабилизации транскриптов. В частности, FXR1 негативно регулирует трансляцию мРНК ключевого провоспалительного цитокина TNF α [2]. При нейродегенеративных заболеваниях, таких, как болезнь Альцгеймера и болезнь Паркинсона, уровень продукции TNF α резко возрастает [3]. Эти данные позволяют полагать, что при стрессе FXR1 может входить в состав стресс-гранул, цитоплазматических включений, собирающихся при ингибировании трансляции в ответ на стресс, и инактивироваться. В данной работе мы проанализировали влияние метаарсенита натрия (NaAsO₂) на уровень агрегации белка FXR1 в культуре клеток нейробластомы человека SH-SY5Y. С помощью иммуноцитохимического окрашивания было показано, что индукция стресса с использованием NaAsO₂ способствует сборке FXR1 в крупные цитоплазматические гранулы, колокализирующиеся с коровым компонентом стресс-гранул, белком FMRP.

Одной из стресс-индуцируемых протеинкиназ является митоген-активируемая киназа p38. Предварительная обработка клеток нейробластомы SH-SY5Y ингибитором p38, SB203580, вызывает конформационные изменения белка FXR1. На основании этих данных можно заключить, что при стрессовом воздействии киназа p38 способствует сборке амилоидных олигомеров РНК-связывающего белка FXR1 в стресс-гранулы. Полученные нами данные показывают, что нейрональные стресс-гранулы, представляющие собой динамичные структуры, включают в свой состав амилоидные фибриллы белка FXR1.

[1] Velizhanina & Galkin. Int J Mol Sci, 2022. 23(14), 7997. doi: 10.3390/ijms23147997.

[2] Khera et al. The FEBS journal, 2010. 277(13), 2754–2765. doi: 10.1111/j.1742-4658.2010.07692.x

[3] Strohmeyer & Rogers. JAD, 2001. 3(1), 131–157. doi: 10.3233/jad-2001-3118

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 24-14-00233.



Анализ влияния мутаций в генах SUP35 и SUP45 на количественное соотношение белков в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

Л.Г. Данилов¹, С.Е. Москаленко^{1, 2}, Е.М. Максютенко^{1, 2}, Г.А. Журавлева^{1, 3}

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологии, Санкт-Петербург, Россия

² Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербург, Россия

³ Санкт-Петербургский государственный университет, лаборатория биологии амилоидов, Санкт-Петербург, Россия

lavrentydanilov@gmail.com

У дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в терминации трансляции участвуют два основных фактора — eRF1 и eRF3, которые кодируются генами SUP45 и SUP35, соответственно. Делеция любого из этих генов приводит к гибели дрожжевых клеток. Ранее в нашей лаборатории были получены и охарактеризованы жизнеспособные штаммы с нонсенс-мутациями в генах SUP45 и SUP35. Показано, что полученные варианты с нонсенс мутациями (обозначаемые как *sup45-n* и *sup35-n*) приводят к образованию укороченных вариантов факторов терминации трансляции и значительному снижению уровня полно-размерных белков eRF1 и eRF3.

В данной работе мы провели анализ протеома методом масс-спектрометрии в штаммах, несущих нонсенс-мутации *sup35-218* и *sup45-105*, а также в штаммах дикого типа, для выявления возможных механизмов адаптации дрожжей к нарушению в терминации трансляции. В результате анализа выявлены 33 дифференциально-продуцируемых белка в штамме с мутантной аллелью *sup45-105* (12 белков с увеличенной уровнем продукции, 21 — со сниженным уровнем продукции) и 119 дифференциально-продуцируемых белков в штамме, несущем мутантную аллель *sup35-218* (56 белков — с увеличенной уровнем экспрессии и 63 — со сниженным уровнем экспрессии). Для полученных дифференциально-продуцируемых белков проведен анализ обогащения (GO-term analysis). Установлено, что белки с повышенным и с пониженным уровнем продукции относятся к процессам, ассоциированным с изменением метаболических путей. Также выявлен ряд белков с повышенным уровнем продукции в клетках с мутацией *sup35-218*, ассоциированных с клеточным циклом, в том числе белок Cdc28, который является одним из ключевых регуляторов клеточного цикла. Для этих же штаммов также был проведен транскриптомный анализ. Обобщенные данные транскриптомного и протеомного анализа позволяют предположить, что в клетках, несущих мутации в генах SUP35 и SUP45, может происходить замедление клеточного цикла.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ 23-14-00063 и с использованием оборудования РЦ СПбГУ РМиКТ.



Анализ эффекта генов, регулирующих механизмы индукции воспаления, на базовые когнитивные функции

Р.Ф. Еникеева¹, А.В. Казанцева¹, Ю.Д. Давыдова¹, Р.Н. Мустафин², З.Р. Тахирова³, М.М. Лобаскова⁴,
С.А. Мирза³, Э.М. Фатхулина³, С.Б. Малых⁴, Э.К. Хуснутдинова¹

¹ Институт биохимии и генетики ФГБУ УФИЦ РАН, _УФА

² ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава России, _УФА

³ ФГБОУ ВО Уфимский университет науки и технологий, _УФА 4ФГБНУ Психологический институт развития и образования, _Москва

enikeevarf@gmail.com

Когнитивные функции мозга являются важной частью психического здоровья человека, однако на сегодняшний день природа формирования когнитивных способностей остается не до конца изученной. Согласно данным близнецовых исследований, на долю наследственности приходится 50% фенотипической вариации в уровне познавательных способностей (Procopio et al., 2022). Одной из перспективных биологических систем, при изучении когнитивных навыков, является иммунная система в целом и система воспалительного ответа организма в частности. Так, в качестве потенциальных генов-кандидатов, формирующих познавательные способности, были выбраны следующие генетические маркеры: *CRP* (*rs3093077*), *IL1A* (*rs1800587*), *IL1B* (*rs16944*), *TNF/LTA* (*rs1041981*, *rs1800629*). В рамках данной работы такой сложный фенотип, как когнитивные функции мозга, был разделен на базовые составляющие, включающие в себя невербальный интеллект, рабочую память, чувство числа и пространственные способности, уровень которых оценивался при помощи батареи тестов, разработанной в Международной лаборатории междисциплинарных исследований индивидуальных различий в обучении (Голдсмитс, Университет Лондона) и адаптированной для русскоговорящей аудитории сотрудниками Психологического института развития и образования (Москва, Россия). В исследовании приняли участие 1011 индивидов (80% женщин; $19,79 \pm 1,69$ лет) различной этнической принадлежности (535 русских, 231 татар, 160 удмуртов и 85 лиц смешанной этнической принадлежности). В качестве материала для исследования служили образцы ДНК, выделенные из венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции. Генотипирование полиморфных вариантов изученных генов проводили методом ПЦР с флуоресцентной детекцией («BioRad», США). В качестве статистического метода анализа был использован непараметрический критерий U Манна-Уитни в программе PLINK iv.0.9. В результате исследования было показано, что распределение частот аллелей и генотипов изученных полиморфных локусов соответствовало закону распределения Харди-Вайнберга ($P_{HWE} = 0,052$ для *CRP* (*rs3093077*), $P_{HWE} = 0,395$ для *IL1A* (*rs1800587*), $P_{HWE} = 0,945$ для *IL1B* (*rs16944*), $P_{HWE} = 0,157$ и $P_{HWE} = 0,448$ для *TNF/LTA* (*rs1041981*, *rs1800629*) соответственно). В результате статистического анализа была показана ассоциация полиморфного локуса *rs16944* в гене *IL1B* с чувством числа ($P = 0,023$), однако остальные изученные генетические маркеры не показали статистически значимых ассоциаций с когнитивными функциями мозга. Полученные результаты могут объясняться тем, что воспалительный цитокин *IL1B* связан с работой микроглиальных клеток, нарушение функционирования которых может трансформироваться в патологический процесс, инициирующий эндогенное нейровоспаление, приводящее к повреждению целостности нейронов (Wake et al, 2011). Таким образом, можно сделать вывод, что изучение иммунной системы организма может являться перспективным направлением в когнитивной психогенетике.

1. Procopio F, Zhou Q., Wang Z., Gidziela A., Rimfeld K., Malanchini M., Plomin R. The genetics of specific cognitive abilities. *Intelligence*. 2022; 95:101689. DOI: 10.1016/j.intell.2022.101689.
2. Wake H., Moorhouse A. J., Nabekura J. Functions of microglia in the central nervous system — beyond the immune response. *Neuron Glia Biol*. 2011;7(1):47–53. DOI 10.1017/S1740925X12000063.



Изучение жизнеспособности дрожжей у мутантов по генам *SUP45* и *SUP35*

О.М. Землянко¹, Е.П. Ефремова², А.А. Кадысева², С.Е. Москаленко³, Г.А. Журавлева¹

¹ СПбГУ кафедра генетики и биотехнологии, СПбГУ лаборатория биологии амилоидов, Санкт-Петербург

² СПбГУ кафедра генетики и биотехнологии, Санкт-Петербург

³ СПбГУ кафедра генетики и биотехнологии, СПб ФИОГен РАН им. Вавилова, Санкт-Петербург

o.zemlyanko@spbu.ru

Терминацию трансляции у эукариот обеспечивают белковые факторы eRF1 и eRF3. У дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* их кодируют жизненно важные гены *SUP45* и *SUP35*, соответственно. Мутации в этих генах, помимо нарушения точности терминации трансляции, вызывают целый ряд фенотипических проявлений, среди которых и снижение жизнеспособности дрожжевых клеток. Тем не менее ранее в нашей лаборатории были получены и охарактеризованы коллекции нонсенс-мутантов по генам *SUP45* и *SUP35*. Для оценки их жизнеспособности использовали традиционные методы: подсчет коэффициента колониеобразующих единиц или микроскопический анализ соотношения живых и мертвых клеток с помощью специальных красителей (метиленовый синий и флоксин В). Оба эти подхода трудоемки и длительны, что повлекло применение современного метода проточной цитометрии к решению данной задачи. Этот метод позволяет в короткий срок анализировать большие клеточные выборки и исключает возможные субъективные ошибки. Мы сравнили различные методы оценки жизнеспособности штаммов дикого типа и нонсенс-мутантов по генам *SUP45* и *SUP35*, а также провели количественную оценку жизнеспособности у этих штаммов. Ранее было показано, что у нонсенс-мутантов *sup45* или *sup35* снижается количество функциональных полноразмерных белков Sup45 или Sup35. Было обнаружено, что в клетках, у которых мутантные аллели факторов терминации трансляции находятся на плазмиде, происходит увеличение копийности этих плазмид. Было высказано предположение, что увеличение копийности является компенсаторным механизмом поддержания жизнеспособности нонсенс-мутантов. Для проверки этой гипотезы мы провели оценку жизнеспособности у мутантов *sup45* и *sup35* при повышенной экспрессии мутантных аллелей.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ 23-14-00063 и с использованием оборудования РЦ СПбГУ РМиКТ.



Возможный механизм 8-охоА-индуцированного мутагенеза

А.А. Кручинин^{1, 2}, П.Н. Камзеева^{1, 3}, Е.О. Болдинова^{1, 2}, А.В. Аралов³, А.В. Макарова^{1, 2}

¹ Институт биологии гена РАН, Москва

² НИЦ Курчатовский институт, Москва

³ Институт биоорганической химии РАН, Москва

kruchinin77@gmail.com

7,8-дигидро-8-оксогуанин (8-охоG) и 7,8-дигидро-8-оксоаденин (8-охоА) — наиболее распространенные и высокомутатогенные повреждения ДНК, индуцированные окислительным стрессом. 8-охоА намного менее изучен, чем 8-охоG. Данные по активности напротив 8-охоА встречаются в литературе только для 3 из 15 ДНК-полимераз (ДНКП) человека. В клетках замены T → G и T → C, ассоциированные с 8-охоА, наблюдаются в контексте CTT, что соответствует горячей точке мутагенеза онкогена *HRAS*. Недавно мутации в аналогичном сиквенс-контексте были описаны в аденокарциномах пищевода, желудка и поджелудочной железы (подписи SBS17a (T → C) и SBS17b (T → G)). Этиология данных подписей неясна. Мы предполагаем, что 8-охоА-индуцированный мутагенез может быть связан с активностью неидентифицированных ДНКП и являться драйвером SBS17-ассоциированного мутагенеза.

Мы провели анализ активности шести ДНКП из разных семейств и праймазы-полимеразы PrimPol на ДНК с 8-охоА. Большинство ферментов включает напротив 8-охоА нуклеотиды с достаточно высокой эффективностью, и повреждение не является блокирующим. Окисленная модификация аденина не влияла на эффективность синтеза транслезионными ДНКП семейства γ Pol η и Pol κ , но в значительной степени ингибировала активность Pol ι . Повреждение умеренно снижало эффективность включения нуклеотидов (в 4,5–9 раз для dTMP) репаративными ДНКП Pol β и Pol λ семейства X, ДНК-полимеразой Pol ζ семейства V и PrimPol (в реакциях с Mg²⁺). Транслезионные ДНКП Pol κ , Pol ι , Pol ζ и PrimPol (с Mg²⁺) демонстрировали высокую точность синтеза ДНК напротив 8-охоА, включая почти исключительно комплементарный dTMP, в то время как Pol η и PrimPol (с Mn²⁺) вели промутатогенный синтез, эффективно включая dGMP.

Точность синтеза ДНК репаративными Pol β и Pol λ в значительной степени зависела от структуры ДНК-субстрата. Повреждение в составе оцДНК умеренно снижало точность копирования ДНК Pol β (включение dGMP в ~5 раз эффективнее напротив 8-охоА, чем A) и незначительно — Pol λ . На ДНК-субстрате с 5-нт брешью ферменты вели очень точный синтез, тогда как на ДНК-субстрате с 1-нт брешью Pol β и Pol λ осуществляли высокомутатогенный синтез, включая комплементарный dTMP и некомплементарный dGMP с сопоставимой эффективностью.

Полученные данные указывают на возможное участие Pol η в 8-охоА-ассоциированном мутагенезе (образовании A > C трансверсий) при транслезионном синтезе, а также Pol β и Pol λ в реакциях короткозаплаточного пути ЭРО (в частности, удалении комплементарного T из пары с 8-охоА, описанного для ДНК-гликозилазы TDG).

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 23-14-00209.



Кинетические особенности взаимодействия РНКазы H1 с модельными R-петлями различной структуры

А.А. Кузнецова¹, Ю.А. Косарев¹, Е.С. Микушина¹, Д.С. Лаприна¹, Н.А. Тимофеева¹, Н.А. Кузнецов¹

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,
630090, Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, 8
sandra-k@niboch.nsc.ru

Одновременное протекание процессов репликации и транскрипции на близлежащих участках молекулы ДНК приводит к взаимному влиянию и нарушению обоих процессов (Garcia-Muse and Aguilera, 2016). Репликативные вилки, приближающиеся к генам с высокой степенью транскрипции, индуцируют образование R-петлей и способствуют развитию конфликта транскрипции-репликации (Transcription-Replication Conflict, TRC) (Lang et al., 2017; Hamperl et al., 2017). При этом последствия TRC различаются в зависимости от того, в какую сторону движутся транскрипционный и репликативный комплексы. Так, например, у бактерий большинство генов организованы со-направленно, что позволяет избегать встречный конфликт (Merrick, 2017), однако некоторые ключевые гены вирулентности и реакции на стресс ориентированы во встречном направлении относительно репликации. Установлено, что встречный конфликт приводит к остановке процесса репликации и является основным источником нестабильности генома, как непосредственно за счет блокирования репликации, так и за счет повышения риска повреждения одноцепочечного участка ДНК в R-петлях (Garcia-Muse and Aguilera, 2016; Hamperl and Cimprich, 2016; Merrick, 2017).

Идентификация клеточных регуляторных механизмов, ответственных за деблокирование репликации в процессе TRC и изучение молекулярных механизмов, которые используются клетками для предотвращения негативных эффектов R-петель, имеет важное значение для понимания основных клеточных функций поддержания стабильности геномной ДНК. Один из механизмов разрешения TRC в геномной ДНК осуществляется с помощью членов семейства ферментов, обладающих активностью РНКазы H. Показано (Zhuo Yang, 2017), что для поддержания стабильности генома хлоропластов *A. thaliana* и уменьшения негативного эффекта R-петель, требуется согласованное действие РНКазы H (AtRNH1C) и ДНК-гиразы (AtGyr). В связи с этим в рамках настоящей работы с целью реконструкции *in vitro* молекулярных взаимодействий между белками-участниками процесса TRC проведен кинетический анализ особенностей взаимодействия РНКазы H1 AtRNH1C из хлоропластов *Arabidopsis thaliana* и RNH1 из *E. coli* с модельными R-петлями различной структуры в стационарных и предстационарных условиях. Для анализа конформационной подвижности ферментов и субстратов при их взаимодействии в режиме реального времени использовали серию гибридных гетеродуплексов ДНК: РНК, содержащих выпетленный одноцепочечный фрагмент ДНК и флуоресцентный маркер в различных положениях.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ № 23-44-00064.



Разработка модели, способной предсказать уровень зрелой мРНК в культивируемых клетках млекопитающих на основе последовательности DSE терминатора транскрипции

А.Е. Летягина^{1, 2}, А.В. Пиндюрин¹, Л.А. Яринич¹, Л.В. Болдырева¹, А.А. Огиенко¹, Ю.А. Галимова¹,
Е.Н. Андреева¹, Е.С. Омелина¹

¹ Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск

leschenko.anna@mcb.nsc.ru

Модуляция уровня экспрессии целевого гена остаётся одной из самых актуальных задач биотехнологии. Активно исследуется влияние на уровень целевого транскрипта различных комбинаций промоторов и энхансеров, интронов и эффекта положения. Терминаторы транскрипции до недавнего времени оставались в тени подобных исследований. Однако за последние 15 лет было опубликовано несколько работ, показывающих, что терминаторы транскрипции РНК-полимеразы II не только обеспечивают процессинг 3'-конца пре-мРНК, но и регулируют уровень зрелой мРНК [1, 2].

Наша работа направлена на исследование регуляторной роли Downstream sequence element (DSE) — одного из ключевых цис-элементов, принимающих участие в процессинге 3'-конца пре-мРНК. DSE расположен на расстоянии 10–30 н. после сайта полиаденилирования и обеспечивает связывание белка CstF64 с молекулой пре-мРНК.

С использованием метода массового параллельного репортёрного анализа (МППА) в культивируемых клетках НЕК293Т мы измерили уровень зрелой мРНК репортёрного гена eGFP для плазмидных библиотек, содержащих случайные нуклеотидные последовательности длиной 8 п. н. в области DSE. Нам удалось проанализировать около 230 000 различных вариантов последовательности DSE. Мы показали, что изменение последовательности DSE может снижать уровень зрелой мРНК eGFP до 10 раз и повышать до 15 раз по сравнению с исходной последовательностью. Наибольшее влияние на уровень зрелой мРНК оказывает изменение последовательности в районе +15..22 п. н. после сайта полиаденилирования. Мы впервые статистически достоверно показали, что повышение стабильности вторичной структуры пре-мРНК после сигнала полиаденилирования связано со снижением уровня зрелой мРНК репортёрного гена eGFP.

На основе данных МППА с использованием методов машинного обучения была разработана модель, позволяющая предсказать уровень зрелой мРНК интересующего гена на основе последовательности DSE и стабильности вторичной структуры пре-мРНК после сигнала полиаденилирования.

[1] West, S., Proudfoot, N. J. Transcriptional termination enhances protein expression in human cells. *Mol. Cell* 2009, 33, 354–364. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2009.01.008>.

[2] Omelina, E. S., Letiagina A. E., Boldyreva L. V., Ogienko A. A., Galimova Y. A., Yarinich L. A., Pindyurin A. V., Andreyeva E. N. Slight variations in the sequence downstream of the polyadenylation signal significantly increase transgene expression in HEK293T and CHO cells. *Int. J. Mol. Sci.* 2022, 23, 15485. <https://doi.org/10.3390/ijms232415485>.



Новый клеточный фактор *Nicotiana benthamiana*, содержащий ДНК-связывающий домен В3, подавляет развитие тобамовирусной инфекции

К.А. Мавренкова^{1, 2}, Т.В. Комарова^{1, 2}, Н.М. Ершова²

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

² Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

mawrenkova2@gmail.com

Вирусы растений являются фитопатогенами, которые наносят огромный ущерб сельскому хозяйству. Эффективность и скорость развития вирусной инфекции определяется рядом генетических детерминант растения-хозяина, а также балансом между активацией и подавлением защитных ответов. Поиск и изучение таких детерминант расширяет наше представление о взаимодействии вирусов и растений и дает возможность разработки подходов, позволяющих повышать устойчивость сельскохозяйственных культур к инфекции. Ранее среди генов *Nicotiana benthamiana*, экспрессия которых повышается в ответ на заражение вирусом табачной мозаики (ВТМ), нами был обнаружен ген, кодирующий гомолог транскрипционного фактора, содержащего ДНК-связывающий домен В3. Этот ген был назван *NbViTFB3* (от *N. benthamiana* Virus-induced Transcriptional Factor-like containing B3 domain). Целью настоящего исследования является изучение роли *NbViTFB3* в развитии инфекции ВТМ у *N. benthamiana*. По результатам биоинформационного анализа в составе *NbViTFB3* было обнаружено два домена В3, наличие которых характерно для ряда транскрипционных факторов. Для исследования внутриклеточной локализации был использован слитый белок *NbViTFB3: GFP*. В условиях транзientной экспрессии показано, что *NbViTFB3: GFP* локализуется в ядре. Кроме того, была обнаружена ассоциация *NbViTFB3: GFP* с плазмодесмами. Подобный паттерн распределения характерен для транскрипционных факторов, способных перемещаться из клетки в клетку через плазмодесмы для передачи различных сигналов. Для оценки эффективности развития инфекции ВТМ в условиях повышенной экспрессии *NbViTFB3* использовали модельный вирусный вектор ВТМ: GFP, содержащий ген *GFP* вместо гена белка оболочки и способный лишь к ближнему (межклеточному) транспорту. Показано, что при одновременной экспрессии в листьях *NbViTFB3* и ВТМ: GFP снижается эффективность межклеточного транспорта и репродукции вирусного вектора. Таким образом, проведенное исследование показывает, что вирус-индуцируемый клеточный фактор *NbViTFB3* (1) содержит ДНК-связывающие домены В3; (2) локализуется в ядре и плазмодесмах; (3) обладает противовирусной функцией.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-74-20031.



Получение мутантных белков семейства eIF4E *Solanum tuberosum*, несущих аминокислотные фосфомимические замены в положениях предсказанных сайтов фосфорилирования

М. Г. Малеев¹, В. В. Колесникова¹, О. С. Никонов¹, Е. Ю. Никонова¹

¹ Институт белка РАН

maks_gennadevich@inbox.ru

Эукариотический фактор инициации трансляции 4E представляет собой односубъединичный белок массой около 25 kDa, который связывается с 5'-кэп-структурой на мРНК и участвует в формировании eIF4E, необходимого для рекрутирования 43S комплекса. Показано, что eIF4E может подвергаться фосфорилированию, однако до настоящего времени нет однозначного понимания, как это влияет на его структуру и функции. Несмотря на то, что функции eIF4E картофеля активно изучают в контексте борьбы с вирусными заболеваниями, на сегодняшний день отсутствуют данные о регуляции трансляции посредством его фосфорилирования.

Целью данной работы является получение мутантных форм белков семейства eIF4E *Solanum tuberosum* (SteIF4E), несущих аминокислотные фосфомимические замены в положениях предсказанных сайтов фосфорилирования.

Нами был проведен анализ структуры модели SteIF4E и поиск возможных сайтов фосфорилирования. В результате была обнаружена аминокислотная последовательность, соответствующая сайту фосфорилирования родственной Snf1 протеинкиназы 1 (SnRK1), расположенная рядом с кэп-узнающей петлей $\beta 3\beta 4$. Избирательное фосфорилирование фактора *in vitro* дает гетерогенный препарат белка. Поэтому нами были внесены точечные нуклеотидные замены в плазмиды, кодирующие изоформы SteIF4E, для получения мутантных форм с фосфомимическими заменами в сайте фосфорилирования SnRK1. Для этих мутантных форм была разработана схема выделения, и белки получены в препаративных количествах.

Результаты: 1) в SteIF4E обнаружен потенциальный сайт фосфорилирования, способный повлиять на функции белка; 2) получены мутантные формы белков семейства SteIF4E, несущие аминокислотные фосфомимические замены в положениях предсказанных сайтов фосфорилирования.



Анализ влияния мутаций в генах *SUP35* и *SUP45* на экспрессию генов

С.Е. Москаленко¹, Е.М. Максютенко¹, Ю.А. Барбитов², А.Г. Матвеев², Г.А. Журавлева²

¹ СПбГУ кафедра генетики и биотехнологии; СПб ФИОГен РАН им. Вавилова, Санкт-Петербург

² СПбГУ кафедра генетики и биотехнологии, Санкт-Петербург

s.moskalenko@spbu.ru

У эукариот в терминации трансляции участвуют два основных фактора — eRF1 и eRF3. Гены *SUP45* и *SUP35*, кодирующие эти белки у дрожжей, являются жизненно необходимыми: делеция любого из них приводит к гибели клеток дрожжей. Ранее в нашей лаборатории были получены жизнеспособные штаммы с нонсенс-мутациями как в гене *SUP45*, так и в гене *SUP35*. Показано, что данные мутации приводят к образованию укороченных белков и снижению уровня полноразмерных eRF1 и eRF3 соответственно. Для изучения влияния мутаций в генах *SUP45* и *SUP35* на экспрессию различных генов был использован метод РНК-секвенирования. Было проведено секвенирование 30 штаммов как дикого типа, так и несущих нонсенс-мутации *sup35-218* и *sup45-105*. В ходе анализа дифференциальной экспрессии нами были отобраны гены со статистически значимыми различиями в экспрессии, а также проанализированы молекулярные процессы, которые они регулируют. В случае аллели *sup35-*

218 анализ показал обогащение набора генов с повышенной экспрессией генами, участвующими в контроле клеточного цикла, а также генами, продукты которых активны в клеточной стенке и в составе циклин-зависимых протеинкиназ. Среди генов со сниженной экспрессией обнаружены гены-участники различных процессов биосинтеза, в том числе синтеза аминокислот. В случае аллели *sup45-105* анализ показал обогащение набора генов с повышенной экспрессией генами, участвующими в углеводном метаболизме, например, обмене гликогена и полисахаридов. Среди генов со сниженной экспрессией была обнаружена перепредставленность генов-участников различных процессов биосинтеза, в том числе синтеза нуклеотидов. На основе данных результатов нами была выдвинута гипотеза замедления клеточного цикла. Предположительно в результате замещения аллелей дикого типа на мутантные аллели генов факторов терминации трансляции происходят нарушения в синтезе белков, нормальном течении клеточного цикла и деления.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ 23-14-00063 и с использованием оборудования РЦ СПбГУ РМиКТ.



Изменения профилей метилирования CpG-сайтов генов *ELOVL2*, *FHL2*, *PDE4C*, *CBLN4*, *ZNF423*, ассоциированные с возрастом

А.М. Погосян¹, А.Д. Золоторенко¹, С.А. Брускин¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова
Российской академии наук, Москва

pogosyan@vigg.ru

Метилирование ДНК является одной из наиболее изученных эпигенетических модификаций, которая играет ключевую роль в регуляции экспрессии генов и определении клеточных функций. В онтогенезе уровень метилирования части генов динамически изменяется, что обуславливает изменения в профилях экспрессии генов, ассоциированные с возрастом. Существует большое разнообразие молекулярно-генетических методов оценки возраста, каждый из которых имеет свои особенности и области применения. Наиболее распространенным методом поиска локусов, метилирование которых ассоциировано с возрастом, является секвенирование бисульфитно-конвертированной ДНК. Этот метод позволяет охарактеризовать профили метилирования по всему геному, однако является достаточно дорогостоящим и не подходит для образцов с низким качеством или количеством ДНК. Целью данного исследования стала разработка метода определения возраста по профилю метилирования ДНК без предварительной бисульфитной конверсии и с использованием небольшого количества исходного материала.

Нами был разработан метод оценки уровней метилирования ДНК без бисульфитной конверсии, на основе обработки метилзависимой ДНК-эндонуклеазой *GlaI* с последующей оценкой методом количественной ПЦР. На основе литературного анализа были подобраны локусы, метилирование которых коррелировало с возрастом, расположенные в генах *ELOVL2*, *FHL2*, *PDE4C*, *ZNF*, *CBLN4*. На выборке из 51-го образца донорской крови в возрасте от 18 до 51 года были описаны изменения уровней метилирования ДНК в вышеописанных генах и была установлена корреляция уровней метилирования выбранных CpG-сайтов с возрастом. Таким образом, разработанный метод позволяет оценивать уровни метилирования ДНК без использования бисульфитной конверсии и подходит для тех условий работы, когда для анализа доступно ограниченное количество ДНК.



Регулятор LysR-семейства изгибает ДНК, некорректно позиционируя –10 и –35 боксы промотора

И.Ю. Позднякова-Филатова¹, М.В. Захарова¹

¹ ФИЦ ПНЦБИ РАН, Пущино
irafilatova24@gmail.com

LysR-семейство регуляторных белков (LTTR) является одним из наиболее крупных нных факторов у бактерий: они обычно составляют 10–20% от всего разнообразия транскрипционных регуляторов внутри одной клетки. Взаимодействуют LTTR с оператором в форме тетрамера. С помощью метода DNaseI footprinting было обнаружено 2 участка ДНК, которые защищены белком от действия ДНКазы. Первый участок — RBS (repression/recognition binding site). Он располагается выше –35 бокса промотора подконтрольного гена/оперона и содержит вырожденный палиндром состава T-N₁₁-A. RBS, в контексте эксперимента DNaseI footprinting, называют высокоаффинным, поскольку, повышая концентрацию регуляторного белка, возможно достичь полного насыщения этого сайта (тождественно «полному выбеливанию»). Второй участок — ABS (activation binding sites). Он перекрывается с –35 боксом промотора подконтрольного гена/оперона и не содержит вырожденный палиндром. ABS, в контексте эксперимента DNaseI footprinting, называют низкоаффинным, поскольку, повышая концентрацию регуляторного белка, невозможно достичь насыщения этого сайта (при полном насыщении, при тех же условиях, соседствующего с ним сайта RBS). Участок RBS необходим и достаточен для образования комплекса ДНК-белок. К настоящему моменту предложен один механизм активации белками LTTR: в присутствии индуктора один из димеров, расположенный на сайте ABS, сдвигается в сторону димера, связанного с сайтом RBS, что приводит к высвобождению –35 бокса промотора. Однако 11 из 12 охарактеризованных LTTR не сдвигаются с сайта ABS настолько, чтобы высвободить –35 бокс, сделав его доступным РНК-полимеразе, что указывает на наличие иных факторов, приводящих к активации транскрипции.

Объектом нашего исследования является транскрипционный регулятор LysR-семейства SgpR. В присутствии салицилат-иона он активирует транскрипцию *sgp*-оперона, который кодирует ферменты катаболизма салицилата. С помощью метода DNaseI footprinting мы проанализировали геометрию закрытого комплекса ДНК-SgpR, что позволило нам локализовать сайты RBS и ABS. При совмещении данных о локализации RBS и ABS с трехмерной структурой ДНК мы обнаружили, что в районе «высокоаффинного» участка RBS ДНК защищена со всех сторон спирали, в то время как в районе «низкоаффинного» участка ABS от действия ДНКазы защищены только нуклеотиды, расположенные в одной плоскости (на одной стороне спирали). По-видимому, именно из-за этого участок ABS выглядит на геле как ненасыщаемый. Кроме того, –35 бокс промотора, с которым перекрывается сайт ABS, оказывается на противоположной стороне спирали, относительно сайта связывания регуляторного белка, что не предполагает однозначной конкуренции между РНКП и регуляторным белком. С помощью метода KMnO₄ footprinting мы проанализировали геометрию открытого комплекса ДНК-SgpR, что позволило нам определить одноцепочечные участки оператора, которые также не подвержены гидролизу ДНКазой. Большая часть «высокоаффинного» сайта RBS, расположенная в одной плоскости (на противоположной стороне относительно сайта ABS), оказалась расплетенной, а –35 бокс промотора изогнут относительно –10 бокса, что может являться причиной невозможности образования комплекса РНКП с промотором в присутствии SgpR, но в отсутствии индуктора.

По результатам проделанной работы нам удалось обнаружить, что в присутствии регуляторного белка SgpR происходит изгибание промотора таким образом, что –35 и –10 боксы не располагаются в одной плоскости, а при добавлении индуктора происходит их корректное позиционирование относительно друг друга.

Работа выполнена в рамках Государственного задания FMRM-2022-0024, 122040500033-8.



Определение однонуклеотидных замен и числа триплетных повторов в гуанин-цитозин-богатых фрагментах генома с помощью многокомпонентных гибридационных зондов

М.С. Рубель¹, П.С. Луганская¹, Е.С. Перепелица¹, Д.М. Колпащиков²

¹ Университет ИТМО, Россия

² Университет Центральной Флориды, США

msrubel@itmo.ru

Гибридационные зонды различных типов — молекулярные маячки, TaqMan, зонды для гибридизации *in situ* и Нозерн блота — активно используются в современной биологии и медицине. Они нашли свое применение, например, в протоколах определения различных мутаций в геномах человека и микроорганизмов, ассоциированных с проявлением генетических заболеваний или инфекционными заболеваниями и их свойствами, в том числе антибиотикорезистентностью. Тем не менее, в связи с проявлением так называемой дилеммы афинности-селективности — обратной зависимости селективности к однонуклеотидным заменам от длины и общей афинности фрагмента — затруднено определение замен в участках богатых гуанином и цитозином, например фрагментах системы «токсин-анти-токсин» *Mycobacterium tuberculosis*. Схожим образом гибридационные зонды трудно адаптируются для использования в последовательностях с большим количеством повторов, например, при определении полиглутаминов в гене хантингтина. Отдельным ограничением гибридационных зондов является использование их при относительно низких температурах, не предполагающих полную денатурацию двуцепочечных фрагментов.

Представленная работа объединяет в себе информацию о поведении многокомпонентных гибридационных зондов (ДНК-наносенсоров), состоящих из фрагментов ДНК различной длины при определении однонуклеотидных замен в генах *M. tuberculosis*, а также систему из нескольких зондов для определения количества глутаминов в гене хантингтина. Было продемонстрировано поведение ДНК-наносенсоров в зависимости от длины анализируемого двуцепочечного фрагмента, содержания гуанина и цитозина в определенных участках и гуанин-цитозинового профиля последовательности в целом, влияния модифицированных нуклеотидов или дополнительных одноцепочечных точек посадки на детекцию однонуклеотидных замен и фрагментов гена в целом.

Результаты работы могут стать основой для создания тест-систем для высокоточного определения нейродегенеративных заболеваний и устойчивости возбудителей туберкулеза к антибиотикам.

Работа поддержана Министерством образования и науки Российской Федерации, проект № FSER-2022-0009.



Изучение функций N-конца белка MSL1 в процессе работы комплекса дозовой компенсации у *Drosophila melanogaster*

В.Е. Рыжкова¹, В.А. Бабоша¹, Е.А. Тихонова¹, П.Г. Георгиев¹, О.Г. Максименко¹

¹ Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

varvara.e.ryzhkova@gmail.com

Комплекс дозовой компенсации (КДК) у самцов *D. melanogaster* участвует в процессе дозовой компенсации и состоит из пяти жизненно важных для самцов белков и двух длинных нкРНК. Работа КДК является уникальной моделью для изучения механизмов, определяющих специфичность факторов, регулирующих экспрессию генов.

Коровая часть КДК, способная распознавать некоторые сайты X-хромосомы, образуется за счет взаимодействия MSL1 и MSL2 с помощью домена типа «coiled coil» на N-конце белка MSL1. C-конец белка MSL1 (с 264 по 1039 а.о.) необходим для связывания других белков комплекса. Ранее было показано, что удаление N-конца белка MSL1 приводит к нарушению сборки КДК и приводит к летальности самцов.

Целью исследования является определение участков N-конца белка MSL1, участвующих в рекрутировании КДК, и их роли в процессе распознавания X-хромосомы. С использованием двугибридной системы мы определили, что три участка на N-конце MSL1 (1–15 а.о., 66–85 а.о. и домен «coiled coil») связывают транскрипционные факторы, а дальнейшее исследование этих участков *in vivo* в личинках трансгенных линий мух, несущих кодирующие последовательности MSL2 и укороченного белка MSL1 (MSL1[1–263]) или его вариантов с соответствующими делециями, показало, что коровая часть КДК способна связываться даже с аутосомами, удаление участка 1–15 а.о. частично нарушает это связывание, а одновременное удаление участков 1–15 а.о. и 66–85 а.о. приводит к полному элиминированию укороченного белка MSL1 с хромосом. Также мы показали, что N-конец белка MSL1 взаимодействует с нкРНК roX2, что, вероятно, способствует взаимодействию с MSL2. Однако, при исследовании уровня экспрессии roX2 в линии *msh-1[1–263]/msh-2*, мы обнаружили уровень экспрессии этого гена на уровне самок дикого типа, в которых не образуется КДК.

Таким образом, мы показали, что возможным механизмом обеспечения специфичности КДК может являться его взаимодействие с транскрипционными факторами посредством определенных участков N-конца MSL1, тем не менее роль этих участков в дозовой компенсации требует дальнейшего изучения.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 24-14-0033 и субсидии Министерства науки и высшего образования РФ № 075-15-2019-1661.



Сопоставление митоза и мейоза для изучения многообразия млекопитающих на примере мелких хищников

В.М. Малыгин^{1, 2}, Л.Д. Сафронова¹, Е.Г. Сергеев¹

¹ ИППЭ им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

² МГУ Москва

ldsafroнова@gmail.com

Во многих таксономических группах позвоночных биологическое разнообразие изучено с описанием хромосом и подсчетом их числа. Так, среди млекопитающих, включающих порядка 5,5 тысяч видов, подсчитано число плеч хромосом и изучена их морфология, что в ряде случаев позволило уточнить проблемы таксономии (Орлов и др., 2023). Однако у большинства из этих видов мейоз, приводящий к появлению гамет, и его ключевой признак, синаптонемный (белковый) комплекс (СК), формирующийся между гомологичными хромосомами в профазе I мейоза и играющий важную роль в главных мейотических событиях: синапсис, сегрегация хромосом, кроссинговер — до сих пор не исследованы. Любые нарушения, затрудняющие эти мейотические процессы, будут сказываться на половых клетках и, в конечном счете, на организме в целом. Это привлекает внимание к исследованию у млекопитающих мейоза в дополнение к информации о митотических хромосомах.

Особый интерес представляет изучение мейоза у гибридных особей млекопитающих, дополненного сведениями об родительских формах в митозе.

Хорошими моделями млекопитающих могут служить мелкие хищники. Диплоидные числа хромосом у представителей хищных Carnivora, колеблются от $2n = 78$ (в частности, у собаки, *Canis latrans* до, например, у корсака, *Vulpes corsac* $2n = 36$). Морфология аутосом и гетерохромосом в целом у хищных переменна, но у представителей этого семейства (при преобладающем $2n = 38$) у разных видов достаточно близка. Например, в роду куницы, род *Martes*, имеются хорошие виды с одинаковым числом и морфологией хромосом: *M. americana* и *M. foina* ($2n = 38$, NFa = 66) или *M. melampus* и *M. zibellina* ($2n = 38$, NFa = 68) и др. В связи с этим обстоятельством, систематика хищных достаточно запутана и требует уточнения как на основе гибридизации, так и с помощью изучения мейоза у гибридов. У гибридных представителей отряда хищных установлены переходы от полной фертильности (например, у видов в семействе Mustelidae) до полного бесплодия (Терновский, Терновская, 1994). Так, оказались плодовитыми, незначительно различающиеся по числу и морфологии хромосом межвидовые самки (гибриды F1) от скрещивания фуро, *Putoriu putorius* ($2n = 40$; NF = 64) и с европейской норкой, *Mustela lutreola* ($2n = 38$, NF = 62).

Кроме того, были получены тройные гибриды: фуро, с европейской норкой, и с сибирским колонком, *Kolonocus sibirica*, $2n = 38$; NFa = 62 (Терновский, Терновская, 1994).

Стерильными самцы — межродовые гибриды F1 ($2n = 42$, XY + 1B), полученные в результате искусственного осеменения между резко отличающихся по кариотипу видами: обыкновенной лисой, *Vulpes vulpes* ($2n = 38$; NF = 64) и песцом, *Alopes lagopes* ($2n = 48, 49, 50$; Bogus, 2015; Kuchta-Gladyz et al., 2021).

В настоящем сообщении представлены и анализируются сведения о митозе и мейозе между лесной куницей *Martes martes* ($2n = 38$; NFa = 64–66) и соболем *M. zibellina* ($2n = 38$; NFa = 66). Следует отметить, что гибридизация между этими видами отмечена и в природе. Так, природный гибрид F1 (кидас) был обнаружен на Урале, где накладываются ареалы этих видов рода *Martes*. Сравнительный анализ митотических хромосом показал, что виды отличаются только по одной хромосоме –Y — у первого вида акроцетрик, а у второго — метацентрический элемент (Малыгин и др., 2023).



Новый архитектурный белок Mzfp1 участвует в организации гетерохроматиновых промоторов и инсуляторов дрозофилы

В.В. Соколов¹, О.В. Кырчанова^{1,2}, Н.С. Клименко², О.Г. Максименко², П.Г. Георгиев¹

¹ Институт биологии гена Российской академии наук, Москва

² Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины, Институт биологии гена Российской академии наук, Москва

vladimir.sokolov.v.93@gmail.com

У дрозофилы была описана группа архитектурных белков, которые нужны для организации регуляторных элементов, включая инсуляторы и промоторы. Наиболее исследованными архитектурными белками являются инсуляторный белок Su(Hw), Pita и консервативный среди животных CTCF, для которых характерно наличие кластеров из 5–12 доменов цинковых пальцев C2H2-типа, определяющих специфичное связывание с длинными ДНК-мотивами. Все известные архитектурные белки рекрутируют белок CP190, участвующий в формировании функциональных промоторов и инсуляторов. Нами был найден новый архитектурный белок C2H2-типа, названный Mzfp1 (MADF and zinc-finger protein), который взаимодействует с CP190. Mzfp1 имеет необычную структуру, включающую шесть доменов цинковых пальцев C2H2-типа, организованных в C-концевой кластер, и два тандемных домена MADF, расположенных в центре белка. Полногеномные исследования показали, что Mzfp1 преимущественно связывается с промоторами генов домашнего хозяйства, расположенными как в эухроматиновых, так и в гетерохроматиновых областях хромосом. Исследования методом геномного редактирования показали, что Mzfp1 является незаменимым белком, и для его функциональной активности необходимы как домены MADF, так и область взаимодействия с CP190. Кластер цинковых пальцев отвечает за специфическое связывание Mzfp1 с регуляторными элементами, тогда как один из MADF доменов и область взаимодействия с CP190 участвуют в рекрутировании Mzfp1 на сайты, расположенные в гетерохроматине. Было показано, что Mzfp1 связывается с проксимальной частью границы *Fub*, которая разделяет регуляторные домены гомеозисных генов *Ubx* и *abd-A* в комплексе *Bithorax*. Mzfp1 участвует в функциях *Fub* совместно с архитектурными белками Pita и Su(Hw). Таким образом, Mzfp1 представляет собой новый архитектурный белок, участвующий в организации активных промоторов и инсуляторов.

Поддержано грантом РНФ (19-74-30026-Р) и грантом министерства науки и высшего образования Российской Федерации (075-15-2019-1661).



Повышенная транскрипция теломерных повторов как фактор нестабильности генома

О.А. Соколова¹, А.А. Кобеляцкая¹, В.В. Моргунова¹, А.И. Калмыкова¹

¹ Институт биологии развития имени Н.К. Кольцова РАН, Москва, Россия

sokolova_ol@idbras.ru

Сохранение целостности генома в ряду поколений во многом определяется стабильностью теломер, а их дисфункция приводит к нарушениям развития, появлению раковых клеток и преждевременному старению. Для стабильности теломер необходимо несколько аспектов: поддержание их оптимальной длины, формирование теломерного гетерохроматина, защита концов хромосом от слияния и рекомбинации, а также строгая регуляция транскрипции теломерных повторов. Теломеры транскрибируются у всех изученных организмов, а уровень теломерных РНК является важным маркером стабильности теломер. Особенно продуктивно изучение механизмов регуляции гомеостаза теломер на уровне целого организма. Это позволяет понять, каковы природные механизмы регуляции теломер, и проецировать эти знания при разработке клеточных моделей, имеющих терапевтическую значимость.

В данной работе мы исследовали механизм действия РНК-связывающего белка *Ars2* на экспрессию теломерных повторов и стабильность теломер. У дрозофилы и человека *Ars2* является негативным регулятором экспрессии теломерных повторов, что указывает на его консервативную теломерную роль. Работа проводилась на линии дрозофилы с герминальным нокдауном *Ars2*. Анализ полногеномных данных по изменению уровня транскрипции генов и по ремоделированию хроматина на фоне нокдауна *Ars2* выявил мощную активацию экспрессии теломерных повторов, что сопровождалось декомпактизацией хроматина. Накопление РНК в теломерах приводило к образованию R-петель (РНК-ДНК гибридов), ассоциированных с повреждениями ДНК. Наши данные указывают на то, что в задержке РНК и/или в преждевременной терминации транскрипции участвуют неканонические структуры, образуемые гуанин-богатыми участками теломерной ДНК — G-квадруплексами. Таким образом, механизм геномной нестабильности, наблюдаемый при гиперэкспрессии теломерных повторов, связан с возникновением R-петель и разрывов теломерной ДНК.

Стабильность теломер особенно важна при разработке клинически важных клеточных линий человека. Получение линий индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (иПСК) сопровождается эпигенетической перестройкой и активацией рекомбинационных процессов в теломерах, что может приводить к генетической нестабильности. В процессе рекомбинации участвует теломерная РНК, TERRA, поэтому определение уровня теломерной РНК является важным диагностическим показателем стабильности теломер в клетках человека.



Неканоническая терминация транскрипции у *Drosophila melanogaster*

Ю.В. Солдатова¹, О.Г. Максименко¹, П.Г. Георгиев¹, М.В. Тихонов¹

¹ ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва

nao.jem@gmail.com

Транскрипция почти всех белок-кодирующих генов начинается на промоторах и заканчивается на сигналах полиаденилирования. Ассоциированные с РНК-полимеразой белковые факторы распознают сигнал полиаденилирования в конце гена. Это приводит к расщеплению пре-мРНК, конформационным изменениям в транскрипционном комплексе, остановке элонгации и диссоциации полимеразы и транскрипта. Отличный от этого способ терминации встречается в локусе *mod(mdg4)* у *Drosophila melanogaster*. Транскрипт, образующийся в этом локусе, не полиаденилируется, а терминация транскрипции происходит без типичных сигналов полиаденилирования.

Нами было показано, что формирующиеся транскрипты не имеют четкой границы на 3'-конце. Вся эта зона обогащена РНК-полимеразой II, что свидетельствует о ее паузинге. Установлено, что участок, отвечающий за терминацию, содержит высоко консервативный среди семейства *Drosophilidae* фрагмент, способный формировать вторичную структуру РНК. Для проверки способности этого участка и его укороченных вариантов длиной 112 и 80 н. терминировать транскрипцию, была сделана модельная система. Она состояла из двух генов и исследуемого участка между ними. Все варианты, содержащие консервативную вторичную структуру, вызывают терминацию, при этом менее эффективную, чем канонический сигнал полиаденилирования. Роль найденного элемента в терминации транскрипции была подтверждена в эндогенном локусе при его удалении с помощью CRISPR/cas9.

Гомологичная последовательность из дальнего вида *D. willistoni* и синтетическая последовательность аналогичной формы, но с другим нуклеотидным составом, терминацию не вызывают. Исходные вторичные структуры в клетках человека к терминации также не приводили, что говорит о видоспецифичности наблюдаемого явления.

Таким образом, определен участок длиной 80 нуклеотидов, ответственный за терминацию транскрипции, он составляет центральную часть вторичной структуры. Вероятно, что в обнаруженной неканонической терминации играет роль не только вторичная структура, но и связывающиеся с ней белки, которые еще предстоит обнаружить.

Поддержано грантом РФ (23-44-00038) и грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (075-15-2019-1661).



Экспрессия сплайсосомных форм длинной некодирующей РНК ANRIL при артериальной гипертензии

Л. В. Топчиева¹, В. А. Корнева², И. В. Курбатова¹

¹ ИБ КарНЦ РАН

² ПетрГУ

topchieva67@mail.ru

В поддержании гомеостаза эндотелиальных и гладкомышечных клеток сосудов участвуют длинные некодирующие РНК (днРНК) (Michalik et al., 2014). Они могут регулировать их клеточный цикл, продукцию цитокинов, процессы трансэндотелиальной миграции лейкоцитов (Zhang, Sun, 2020). В условиях, способствующих формированию дисфункции эндотелия (ЭД), в частности при артериальной гипертензии (АГ), наблюдаются изменения в содержании некоторых днРНК, что позволяет предположить их участие в патогенезе данного заболевания (Zhang, Sun, 2020). Имеются сведения о вовлечении в развитие ЭД и патогенез сердечно-сосудистых заболеваний днРНК ANRIL (Antisense Noncoding RNA in the INK4 Locus) (Cho et al., 2020). Как оказалось, разные формы этой днРНК могут формироваться за счет альтернативного сплайсинга и, вероятно, участвовать в разнонаправленных процессах в отношении функций эндотелия сосудов. Так показано, что гиперэкспрессия в ЭК сплайсосомной формы NR-003529 ANRIL обеспечивает усиление адгезии моноцитов и их трансэндотелиальную миграцию (Cho et al., 2020). Снижение содержания транскриптов DQ485454 ANRIL и кольцевой формы этой днРНК усиливает негативный эффект на эндотелий сосудов повышенной экспрессии NR-003529 (Cho et al., 2020). Тем не менее вопрос о том, как изменяется уровень этих транскриптов при артериальной гипертензии, остается неизученным. Цель исследования — оценить уровень транскриптов NR-003529 ANRIL и DQ485454 ANRIL в лейкоцитах периферической крови при артериальной гипертензии.

В исследование включены 18 здоровых индивидов (возраст 45 ± 4.3 лет), 15 пациентов с АГ (I–II стадии), не принимавшие гипотензивные препараты (возраст 42 ± 5.2 года), 12 пациентов с АГ, принимающие метопролол (25 мг/сут) или бисопролол (5–10 мг/сут) (возраст 50 ± 3.8 лет). Тотальную РНК выделяли из ЛПК с помощью реагента «Extract RNA» (Евроген, Россия). Для синтеза первой цепи использовали набор MMLV RT kit (Евроген, Россия). Уровень транскриптов NR-003529 ANRIL и DQ485454 ANRIL оценивали с помощью ПЦР в режиме реального времени на приборе iCycler с оптической приставкой iQ5 (Bio-Rad, США), используя набор «Screen-Mix SYBRGreen» (Евроген, Россия). Последовательность праймеров для NR-003529 ANRIL дана в работе (Cho et al., 2020). Праймеры для изучения уровня транскриптов DQ485454 ANRIL конструировали в программе Beacon Designer 5.0. В качестве референсного гена использовали ген *18S rRNA*. Статистическую обработку данных проводили в программе Statgraphics 2.1. Для анализа статистической значимости различий уровней транскриптов был использован непараметрический критерий U Вилкоксона-Манна-Уитни.

Относительный уровень транскриптов NR-003529 ANRIL в ЛПК здоровых людей был значительно ниже, чем у пациентов с АГ, независимо от того, находились ли они на антигипертензивной терапии или нет (медианы: 0,017 отн. ед., $p = 0,0002$ и 0,248 отн. ед., $p = 0,00036$, соответственно при сравнении групп пациентов на терапии и без терапии с условно здоровыми индивидами (медиана: 0,0017 отн. ед.). Количество транскриптов DQ485454 ANRIL, напротив, было выше в ЛПК здоровых индивидов (медиана: 0,39), чем пациентов с АГ (медианы: 0,011 отн. ед., $p = 0,015$ и 0,035 отн. ед., $p = 0,0075$, соответственно при сравнении групп пациентов на антигипертензивной терапии и без терапии с условно здоровыми индивидами). Выявлена тесная связь между уровнем экспрессии NR-003529 ANRIL и DQ485454 ANRIL в ЛПК здоровых людей ($R = 0,76$, $p = 0,04$). Содержание NR-003529 ANRIL в ЛПК пациентов с АГ отрицательно коррелировало с количеством транскриптов DQ485454 ANRIL ($R = -0,500$, $p = 0,032$). Уровень NR-003529 ANRIL в ЛПК гипертоников положительно коррелировал с содержанием малонового диальдегида в плазме крови ($R = 0,77$, $p = 0,035$).

Полученные данные свидетельствуют о вовлечении NR-003529 ANRIL и DQ485454 ANRIL в патогенез артериальной гипертензии.



Участие малой некодирующей 6S-1 РНК в регуляции биосинтеза сурфактина в клетках *Bacillus subtilis*

В.С. Трефилов¹, Е.Ю. Линдин¹, В.А. Лабанов², М.Г. Хренова¹, М.Э. Зверева¹, О.Ю. Буренина³,
Е.А. Кубарева⁴

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, химический факультет, Москва, Россия

² Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

³ Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

⁴ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского, Москва, Россия

trefilov.vadik@gmail.com

6S РНК — малая некодирующая РНК с консервативной вторичной структурой, напоминающей ДНК в открытом комплексе с РНК-полимеразой. Конкурируя с ДНК за связывание с ферментом, 6S РНК выступает в роли глобального регулятора транскрипции. В клетках *Bacillus subtilis* закодированы две 6S РНК: 6S-1 и 6S-2. В научной литературе имеются данные, позволившие нам предположить участие малых некодирующих 6S РНК в регуляции процесса биосинтеза сурфактина в клетках *B. subtilis*.

Сурфактин — один из самых известных и востребованных представителей поверхностно-активных веществ биологического происхождения (биоПАВ). Единственным путем промышленного получения этого соединения является микробиологический синтез. Нокаут генов 6S-1 и 6S-2 РНК *B. subtilis* не приводит к летальным последствиям для клетки, поэтому изучение роли 6S РНК в метаболическом пути сурфактина может стать основой нового метода суперэкспрессии этого биоПАВ.

В работе использовали два штамма данной бактерии — лабораторный PY79 и природный NCIB3610. Показано, что для обоих штаммов в отсутствие 6S-1 РНК наблюдается повышение уровня мРНК всех генов оперона *surfA*, кодирующего сурфактин-синтетазу, в поздней стационарной фазе роста. Для оценки эффективности биосинтеза сурфактина в бактериальных клетках были оптимизированы спектрофотометрический метод, основанный на разрушении комплекса между рН-индикатором бромтимоловым синим и катионным ПАВ хлоридом цетилпиридиния при добавлении к нему раствора сурфактина, и обращено-фазовая ВЭЖХ. Установлено, что, несмотря на увеличение уровня транскрипции оперона *surfA*, кодирующего сурфактин-синтетазу, делеция гена 6S-1 РНК не способствует повышению эффективности биосинтеза сурфактина в клетках бактерий *B. subtilis* PY79 и NCIB3610. Аналогичные исследования проводятся для 6S-2 РНК.

Выполнено полногеномное нанопоровое секвенирование штаммов NCIB3610 и PY79 дикого типа и с нокаутом гена 6S-1 РНК. Полученные геномы сравнивали с депонированным в базе данных NCBI референсным геномом *B. subtilis* 168 (NC_000964.3). Между клетками дикого типа и с нокаутом гена 6S-1 РНК в обоих штаммах были обнаружены различия как в генах, имеющих потенциально негативное влияние на биосинтез сурфактина (например, гены *spxH*, *murD*, *liaF* и *spxH*, *accA*, *dhbF*, оперон *eps* для штаммов NCIB3610 и PY79 соответственно), так и потенциально положительное влияние на этот процесс (например, в генах *fabD*, *pyk* и *ntdB*, *fabHB*, *yhfS* для штаммов NCIB3610 и PY79 соответственно). Детальное изучение обнаруженных мутаций позволит сделать более однозначный вывод о их суммарном влиянии на процесс биосинтеза сурфактина для каждой клеточной линии.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 24-24-00193.



Эпигенетические модификации матричного цитозина изменяют точность репаративных и транслезионных ДНК-полимераз человека

Е.С. Шилкин¹, Д.В. Петрова², А.В. Макарова¹, Д.О. Жарков²

¹ Институт биологии гена РАН, Москва, Россия

² Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

shilkinevgeniy.chem@gmail.com

Эпигенетическое метилирование цитозина охватывает большинство геномных CpG-динуклеотидов в клетках человека. Помимо мутагенеза, опосредованного дезаминированием в CpG-сайтах, ранее был описан альтернативный, независимый от дезаминирования путь, связанный с ДНК-полимеразной активностью. Этот мутагенез характеризуется мутационной подписью TCG → TTG и предположительно возникает в результате ошибочного включения dAMP напротив 5-метилцитозина (mC) или его окисленного производного 5-гидроксиметилцитозина (hmC) ДНК-полимеразами В-семейства с нарушенной 3'-5'-экзонуклеазной активностью. Однако mC также увеличивает риск повреждения соседних нуклеотидов, в частности, образования 8-оксо-2'-дезоксигуанозина (8-охоG). Транслезионные и репаративные ДНКП, лишенные корректирующей активности, могут участвовать в синтезе ДНК в поврежденных CpG сайтах.

Был проведен анализ эффективности и точности транслезионных и репаративных полимераз человека семейств Y (Pol κ, Pol η, Pol ι и REV1) и X (Pol β, Pol λ), а также праймазы-полимеразы PrimPol напротив mC и hmC и 8-охоG, примыкающего к mC в TCG-контексте. Результаты свидетельствуют, что эпигенетические модификации цитозина подавляют активность Pol ι и REV1 и приводят к увеличению ошибочного включения dAMP напротив mC и hmC ферментами PrimPol, Pol κ и Pol ι *in vitro*.

Проведен анализ транслезионной активности ДНКП напротив 8-охоG и их способность удлинять праймер после включения C или A напротив 8-охоG в зависимости от статуса метилирования C, следующего за 8-охоG в матричной цепи. Показано, что метилирование цитозина увеличивает включение некомплементарного dAMP напротив соседнего 8-охоG ферментом PrimPol и снижает транслезионную активность Pol η напротив повреждения. Напротив, присутствие mC увеличивало включение dCMP напротив 8-охоG ферментом REV1.

Работа поддержана грантом РФФ 22-24-20156.



Дифференциальная экспрессия некодирующих РНК в гранулезных клетках яичника человека

Т.П. Шкурат^{1,1}, Е.Г. Деревянчук¹, О.В. Лянгасова¹, Д.Е. Романов¹, Л. Липович²

¹ Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону

² Shenzhen Huayuan Biotechnology Co., Ltd.; China and Wayne State University, Detroit, Michigan, U. S. A

tshkurat@yandex.ru

Гранулезные клетки питают, защищают и поддерживают ооцит во время его созревания. На современном уровне знаний нет исчерпывающей информации о роли некодирующей РНК в гранулезных клетках яичника человека. Некодирующие РНК — это функциональные транскрипты, не кодирующие белки, которые вовлечены в регуляцию множества клеточных процессов. В последнее время накапливается все больше данных, свидетельствующих о роли длинных некодирующих РНК как важнейшего регулятора транскрипции и их участию в различных клеточных процессах.

Целью работы было изучение дифференциальной экспрессии некодирующих РНК и определение их функций в гранулезных клетках яичника человека.

Материалом для данной работы послужили открытые данные РНКсеквенирования гранулезных опухолевых клеток яичника человека (KGN). Исследовали транскриптом клеток KGN полученный из базы данных FANTOM5 (<https://fantom.gsc.riken.jp/5/datahub>). Программу OmicsBox использовали для аннотации дифференциально экспрессирующихся транскриптов длинных некодирующих РНК. Для аннотации функции генов использовали базы данных KEGG, GO, GENCODE, NCBI. Исходные данные были преобразованы в формат BED (Browser Extensible Data), уровень экспрессии оценивали по TPM > 5 (tags per million), последовательности были извлечены по названиям генов. Количество транскрибируемых генов, для которых аннотации для которых неизвестны составили 17051. Количество кодирующих белок генов с TPM > 5 было составило 10210 генов, при этом наибольшее число TPM (более 2000) зарегистрировали для генов: *ACTG1*, *IGFBP7*, *FN1*, *COL1A1*, *ACTB*, *VIM*, *GAPDH*, *B2M*, *TMSB10*, *PKM*. Наибольшим уровнем экспрессии обладали некодирующие РНК: *MALAT1*, *NEAT1*, *SNHG22*, *SNHG5*, *ZFAS1* (TPM: 6414,63; 191,36; 187,52; 182,72; 128,32 соответственно).

В результате этих исследований был сформирован прогностический перечень lncRNAs гранулезных клеток, участвующих в процессе фолликулогенеза и овариального ответа. Установлено, что транскрибируемые lncRNAs в гранулезных клетках яичника человека отвечают за пролиферативную активность, регуляцию апоптоза, контроль клеточного цикла, синтез и метаболизм андрогенов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (РНФ) № 23-15-00464.



Растительный препарат айлантон снижает пролиферацию опухолевых клеток, ингибируя биосинтез белка

Т.А. Штам^{1, 2}, А.В. Никитина¹, И.И. Сорокин³, Е.Б. Пичкур^{1, 2}, Л.А. Гараева¹, А.Л. Коневега^{1, 2},
С.Е. Дмитриев³

¹ ФГБУ «Петербургский Институт Ядерной Физики им. Б.П. Константинова Национального Исследовательского Центра «Курчатовский Институт», Гатчина

² Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

³ НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

Shtam_TA@npi.nrcki.ru

Айлантон — низкомолекулярное вещество из группы кваксиноидов, один из главных компонентов препаратов восточной медицины, изготавливаемых из коры дерева *Ailanthus altissima*. Несмотря на описанные терапевтические эффекты айлантона в отношении ряда онкологических заболеваний, его мишень в клетке и молекулярный механизм действия оставались неизвестными.

Цель исследования — определение молекулярного механизма терапевтического действия айлантона в опухолевых клетках человека и животных.

Материалы и методы. Антипролиферативную активность айлантона оценивали на клеточных моделях опухолей человека (Du145, A172, HeLa, A549, Gl-Tr) и животных (RLC, EMT6) с помощью резазуринового теста, а также системы детекции жизнеспособности клеток в реальном времени xCelligence. Анализ влияния айлантона на параметры клеточного цикла проводили с помощью проточной цитометрии. Структуру комплекса 80S рибосомы человека с айлантоном определяли с помощью криоэлектронной микроскопии.

Результаты. Мы определили, что айлантон, кваксиноид из растения *Ailanthus altissima*, проявляет значительную противоопухолевую активность *in vitro* и *in vivo*. Кроме того, при определенных концентрациях айлантон индуцирует остановку клеточного цикла в G0/G1-фазе. Методами мРНК-трансфекции и *in vitro* трансляции мы показали, что айлантон ингибирует биосинтез белка в клетках млекопитающих. С помощью криоэлектронной микроскопии высокого разрешения была получена структура 80S рибосомы человека в комплексе с айлантоном. Разрешение 2.24 Å позволило изучить детали межмолекулярных контактов ингибитора с компонентами пептидилтрансферазного центра рибосомы.

Заключение. Айлантон ингибирует рост опухолевых клеток за счет подавления биосинтеза белка. Таким образом, айлантон, компонент препаратов восточной медицины, может рассматриваться в качестве перспективного действующего вещества в противоопухолевой терапии.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 19-74-20146-п.



Влияние 5'-контекста стоп-кодона на эффективность терминации трансляции у эукариот

А.В. Шувалов¹, Н.С. Бизяев¹, Е.З. Алкалаева¹

¹ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, 119991, Москва
laursen1243@mail.ru

Терминация — одна из ключевых стадий трансляции и важный этап ее регуляции. Терминация осуществляется фактором eRF1, распознающим стоп-кодона в А-сайте рибосомы и обеспечивающим гидролиз пептидил-тРНК. Дополнительный фактор eRF3 стимулирует эти процессы. Помимо регуляции трансляции за счет скорости гидролиза пептидил-тРНК на стоп-кодоне основной открытой рамки считывания (ОРС), терминация играет ключевую роль в таких процессах как: контроль качества мРНК, через нонсенс-опосредованный распад; регуляция продукции различных белков с одной матрицы при сквозном прочтении или преждевременной терминации; регуляция трансляции при терминации и сквозном прочтении на коротких ОРС и т. д. Помимо различных дополнительных белковых факторов, на эффективность терминации влияет и нуклеотидный контекст стоп-кодона. В частности, было описано влияние на терминацию эукариот некоторых 3'-контекстов стоп-кодона, и ранее мы показали, что это опосредовано взаимодействием таких контекстов с рибосомой (Biziaeve et al., 2022). Влияние 5'-контекста стоп-кодона изучалось только у прокариот, аппарат терминации которых не гомологичен таковому эукариот и функционирует иначе. В настоящей работе, с использованием нескольких разных *in vitro* подходов, мы изучали влияние 5'-контекста стоп-кодонов на терминацию трансляции эукариот. Наши данные показали, что 5'-контекст стоп-кодона в значительной степени влияет на эффективность терминации трансляции эукариот. Это влияние в первую очередь обусловлено характером кодируемой последней аминокислоты, но последовательность нуклеотидов вырожденных кодонов также оказывает некоторый эффект на терминацию. С использованием данных настоящего исследования, в совместной работе с нашими коллегами из университета Колорадо была показана важность последней аминокислоты для регуляции эффективности нонсенс-опосредованного распада, зависящей от скорости терминации в таких условиях (Kolakada et al., 2024). Таким образом, последняя аминокислота и 5'-контекст стоп-кодона влияют на эффективность терминации, и это имеет важное физиологическое значение.

- [1] Biziaeve N, Sokolova E, Yanvarev D V, Toropygin IY, Shuvalov A, Egorova T, Alkalaeva E. 2022. Recognition of 3' nucleotide context and stop codon readthrough are determined during mRNA translation elongation // J Biol Chem 298: 102133.
- [2] Kolakada D, Fu R, Biziaeve N, Shuvalov A., Lore M., Campbell A., Cortázar M., Sajek M., Hesselberth J., Mukherjee N., Alkalaeva E., Jagannathan S. 2024. Peptidyl-tRNA hydrolysis rate influences the efficiency of nonsense-mediated mRNA decay. bioRxiv, 2024–01.

Работа выполнена при поддержке грантом РФФ 22-14-00279.

Симпозиум 2: Экологическая генетика и генетическая токсикология
Symposium 2: Ecological Genetics and Genetic Toxicology



Ecological and genetic assessment of the consequences of the impact of anthropogenic pollution on the environment and public health

A.B. Bigalyev¹, B. Bekmanov², A.N. Kozhakhmetova¹, A.M. Myrzatay¹, K.Z. Shalabayeva¹,
A.S. Kulimbetov³, L.M. Adilova³

¹ *al-Farabi Kazakh National University*

² *Institute of Genetics and Physiology*

³ *Kazakh National Medical University named after S. Asfendiyarov*

aitkhazha@gmail.com

Key words: ecosystem, radionuclides, radiation, ecological genetics, hereditary diseases.

Determining the concentration of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) as oil pollution and their metabolites as particular xenobiotics in the Kazakhstan side of the Caspian Sea is a pressing issue. At the work was established the accumulation of benz(a)pyrene in the muscle tissue of the studied water biota (fish, polychaetes and mollusks). It was found exceeding of the maximum permissible concentration (MPC) on the heavy metal content as the indicator organisms of shellfish body associated with oil (iron, lead, nickel). The data of dynamic observations over many years indicate the species and tissue specificity of the studied objects to the action of oil pollution, which represents a potential carcinogenic and mutagenic danger to biota and humans. Cytogenetic studies carried out using a chromosomal analyzing test. Was found cytogenetic abnormalities. A significant excess of the frequency of cells all types of aberrations obtained, than level of spontaneous aberrations. Reconnaissance radiation ecological survey of environmental objects was carried out by creating a system of sites for sampling of environmental objects (soil, vegetation, animals, surface, groundwater, bottom sediments) (at least 30 samples) of the territory of the landfill (polygon) and suburban settlements. Measurements of gamma radiation activity showed that the radiation level along the perimeter of the surveyed territory of the landfill and in neighboring settlements was within the range of 0.06–0.014 $\mu\text{Sv/h}$. Molecular genetic analysis using DNA repair genes XRCC1 and XRCC3 of the Mangystau region's population. In order to assess the condition of the organism's repair systems in the Mangystau region's residents, XRCC1 Arg194Trp (rs1799782) and XRCC3 Trp241Met (rs861539) gene polymorphisms were examined. A control group consisted of residents of the Almaty region. Results of molecular genetic studies of DNA of blood cells of people living in the zone of influence of the polygon revealed the spread of several mutant genotypes, as well as an increased risk of environmental diseases in persons with pronounced genome instability. These are hereditary degenerative diseases of the nervous system, congenital malformation and chromosomal diseases, which indicate a possible negative effect of chronic low-dose irradiation.



Genetic mechanisms of mosquito-parasite interactions: insights from chromosomal rearrangements

M. K. Haidara¹, G. N. Artemov¹, V. A. Burlak¹, E. S. Soboleva¹

¹ Tomsk State University_Tomsk
mohamedkaderh@gmail.com

Chromosomal paracentric inversions are common in natural mosquito populations, believed to contain clusters of co-adapted gene variants that enhance adaptability to local environmental conditions. In anopheline mosquitoes, associations have been observed between inversions and various ecological factors, insecticide resistance, feeding behaviours, and vector capacity. These associations suggest a potential link between inversions and parasite infection, including pathogens that can be transmitted to humans and animals. *Anopheles messeae* and *An. daciae* are known vectors of dirofilariasis in Western Siberia, a parasitic disease caused by nematodes *Dirofilaria repens* and *D. immitis*. This study aims to investigate the relationship between polymorphic inversions in *Anopheles* and their susceptibility to dirofilariasis infection in natural populations, while also exploring the genetic mechanisms involved in their vectorial capacity.

We conducted a study over two years, from 2021 to 2022, examining 10 samples of adults collected from the village of Kolarovo in the Tomsk region. A total of 4511 *Anopheles* were collected and dissected, with 713 of them species-identified using PCR-RFLP based on the ITS2 sequence. Additionally, 451 females were analysed karyotypically. Our focus was on the relationship between the dominant species *An. daciae* and *D. repens*, investigating chromosomal inversion polymorphism. Utilizing a list of 763 genes from *An. atroparvus*, we conducted GO analysis, covering all three ontology domains. We identified four *Anopheles* species: *An. daciae* (96.50%), *An. messeae* (2.51%), *An. beklemishevi* (0.97%), and *An. claviger* (0.1%). A predominance of *D. repens* parasites (98.6%) was observed, with 0.6% showing mixed infection, as well as with *D. immitis*.

A difference in the distribution of karyotypes was noted: 8 variants in 2021 and 12 variants in 2022. The majority of samples from 2022 showed a significant difference between individuals uninfected and those infected by dirofilariasis. Only the analysis of the overall species karyotype for the years 2021 and 2022, as well as their sum, revealed a significant difference with infections. Regression analysis showed a positive dynamic ($p=000009$) only with the X01 2R00 3R00 3L00 (2.85%), X11 2R00 3R00 3L00 (0.86%), X00 2R00 3R00 3L00 (0.22%), and X01 2R00 3R01 3L00 (0.010%) karyotypes among the 12 variants with *D. repens* infection, genotypes X01 (0.58%), 2R00 (1.71%), 3R00 (1.08%), and 3L00 (1.66%), as well as alleles X1, 2R0, 3R0 and 3L0.

Gene Ontology (GO) analysis focused on the X1 inversion due to the lack of available data on the complete genome assembly of *An. daciae*, relying instead on the genome of *An. atroparvus*. Notably, at least 763 orthologous of annotated *An. atroparvus* genes involved in polymorphic X1 *An. messeae* inversion. Significant enrichment in GO terms was associated with signalling mechanisms and immune responses. There were 5 genes indirectly and 12 directly involved in immune reactions, expressing proteins such as Cecropin, WD40 repeat, Uridine_phosphorylase_euk, Toll/interleukin-1 receptor homology (TIR) domain, Toll-like_receptor, Glutathione peroxidase, Haem peroxidase superfamily. These proteins play a crucial role in the mosquito's immune response to filarial infection and the regulation of various biological processes affecting the survival and development of larvae. They are therefore potential targets for controlling filarial infection in mosquitoes. Additionally, the expression of these proteins could influence the transmission dynamics of dirofilariasis, providing insights into the susceptibility of mosquitoes to infection and their capacity to transmit the disease.

This study identified, for the first time, an association between *An. daciae* inversion polymorphism and susceptibility to dirofilariasis infection, shedding light on potential biological mechanisms.

This study was supported by the Tomsk State University Development Program (Priority-2030).



Чувствительность лимфоцитов периферической крови человека к генотоксическому действию хлорпирифоса *in vitro*

Н.С. Аверьянова¹, Н.А. Илюшина¹, А.П. Котнова¹, О.В. Горенская¹, С.Д. Игнатьев¹, Ю.В. Демидова¹,
О.В. Егорова¹

¹ ФБУН «Федеральный научный центр гигиены имени Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, Мытищи
averyanova.ns@fncg.ru

Хлорпирифос был одним из наиболее востребованных инсектицидов в сельском хозяйстве. После публикации заключения EFSA в 2020 г., согласно которому хлорпирифос является репротоксикантом (класс 1B), нейротоксикантом и, возможно, обладает генотоксическими свойствами, во многих странах сфера применения препаратов на основе хлорпирифоса была ограничена вплоть до полного запрета. В настоящее время остаются открытыми многие вопросы, касающиеся сохранения хлорпирифоса в объектах окружающей среды, его поступления в организм, а также отдаленных эффектов.

Оценку генотоксического действия хлорпирифоса (5, 10, 25, 50, 100 мкг/мл) проводили с помощью ДНК-кометного анализа в щелочных условиях на лимфоцитах человека (48 участников исследования) в двух параллельных вариантах: в условиях метаболической активации (+S9) и без нее (–S9). Исследование одобрено Этическим комитетом ФБУН «ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора.

Хлорпирифос индуцировал образование разрывов и щелочнолабильных сайтов в молекуле ДНК лимфоцитов большинства доноров, преимущественно в отсутствие системы метаболической активации. В присутствии S9 для клеток большинства доноров не выявлено значимых генотоксических эффектов. Уровни повреждений ДНК в лимфоцитах разных доноров отличались. Кратность увеличения показателя «%ДНК в хвосте комет» по сравнению с отрицательным контролем варьировала в диапазоне 4–74 раз (–S9).

Изучение взаимосвязи между полиморфизмом генов детоксикации ксенобиотиков, системы антиоксидантной защиты и уровнем индуцированных повреждений ДНК в лимфоцитах человека при действии хлорпирифоса выявило наличие статистически значимого повышения уровня повреждений ДНК в лимфоцитах лиц, гомозиготных по минорному аллелю AA по гену каталазы CAT G262A, по сравнению с гетерозиготным вариантом (GA) и гомозиготой по доминантному аллелю GG.

Согласно литературным данным, генотоксичность хлорпирифоса возможно обусловлена образованием активных форм кислорода. Поэтому у лиц с пониженной активностью каталазы (генотип AA) более высокие уровни повреждений ДНК могут быть обусловлены накоплением пероксида водорода в клетках.



Влияние личиночного стресса и инфицирования *Wolbachia* на скорость развития и приспособленность *Drosophila melanogaster*

Н.В. Адоньева¹, Е.К. Карпова¹, В.М. Ефимов^{1, 2}, Н.Е. Грунтенко¹

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск

² Новосибирский Государственный Университет, г. Новосибирск

nadon@bionet.nsc.ru

Одним из наиболее сложных для изучения биологических признаков является приспособленность. Каким образом на приспособленность имаго *Drosophila melanogaster*, насекомого, проходящего в онтогенезе стадию метаморфоза, влияют абиотические и биотические факторы, воздействующие в раннем возрасте? В качестве абиотического фактора мы выбрали тепловой стресс, перенесенный личинками 3-го возраста *D. melanogaster*, в качестве биотического — влияние матерински наследуемой бактерии *Wolbachia*, поражающей в основном генеративные ткани и нервную систему насекомых. Наиболее известный эффект *Wolbachia* — манипулирование репродуктивной функцией насекомого-хозяина, но также есть данные о влиянии бактерии на устойчивость патогенам. Мы проанализировали влияние личиночного стресса и инфицирования различными штаммами *Wolbachia* на время развития от отложенного яйца до вылета имаго, уровень плодовитости и выживаемость при остром тепловом стрессе у линий *D. melanogaster* дикого типа. Мы обнаружили, что под влиянием личиночного стресса продолжительность жизни имаго увеличивается, а стрессоустойчивость и плодовитость падает. Кроме того, на сутки задерживается вылет имаго из куколок. Что касается эффекта *Wolbachia*, то оказалось, что только один из исследованных штаммов, wMelPlus, оказывает существенное влияние на время развития и стрессоустойчивость *D. melanogaster*, причем характер этого влияния определяется комбинацией генотипов хозяина и бактерии. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что при изучении онтогенеза и приспособленности насекомых крайне необходимо учитывать влияние многочисленных и порой неочевидных биотических и абиотических факторов, способных значительно модифицировать результаты исследований.

Настоящая работа поддержана грантом РФФ 23-24-00320.



Генетическая активность экстрактов представителей рода *Monarda* на примере *Drosophila melanogaster*

О.Н. Антосюк¹, Е.В. Болотник², В.В. Костенко³

¹ Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина

² Ботанический сад УрО РАН

³ Казанский федеральный университет

antosuk-olga@mail.ru

Изучение экспрессии генов, играющих ключевую роль в процессах морфогенеза и реакции на стресс при тестировании экстрактов лекарственных растений является немаловажным этапом при исследовании свойств ЛРС (лекарственного растительного сырья). Комплексная оценка эффективности применения ЛРС невозможна без учета побочных проявлений, таких, как генетическая активность и изменение генной экспрессии. В связи с чем необходимо тестировать не только фармакологические свойства фитопрепаратов, но и возникающие негативные эффекты.

Для представителей рода *Monarda* (*M. fistulosa*, *M. dydima*, *M. media*, *M. fistulosa* var. *menthifolia*) показана антипролиферативная, противовирусная, противомикробная фармакологическая активность, но до конца остается неизученным влияние экстрактов данных видов на генетический материал. В связи с этим проводили тестирование экстрактов в отношении изменения активности гена *spaghetti squash*, пик экспрессии которого приходится на стадию эмбриогенеза дрозофилы. Оценивали повреждение ДНК при культивировании особей линии Canton-S *Drosophila melanogaster* на экспериментальных питательных средах с внесением экстрактов представителей рода *Monarda*: использовали биоматериал на стадии личинки, яичники взрослых самок, эмбрионы F1.

Определили стадии эмбриогенеза наиболее чувствительные к воздействию экстрактами *Monarda* в отношении летальности и изменения генной активности. Обнаружили различия в интенсификации повреждения ДНК у представителей рода *Monarda*, а именно: *M. fistulosa* и *M. fistulosa* var. *menthifolia* активнее фрагментируют ДНК, чем *M. dydima* и *M. media*.



Роль унаследованных вариантов генов ферментов репарации ДНК, биотрансформации ксенобиотиков, системы антиоксидантной защиты, контроля клеточного цикла и апоптоза, трансмембранного рецептора семейства рецепторных тирозинкиназ ErbB в формировании риска антракосиликоза у рабочих угольных шахт Кузбасса

М.Л. Баканова^{1, 2, 3}, Н.В. Елисеева², В.И. Минина^{1, 2}, Я.А. Захарова^{1, 2}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр угля и углекислоты Сибирского отделения Российской академии наук», Кемерово

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный университет», Кемерово

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский Государственный медицинский университет» Минздрава России, Кемерово

mari-bakano@ya.ru

Добыча угля остается крупной отраслью, в которой работают миллионы людей по всему миру. У подвергшихся воздействию пыли угольных шахт рабочих могут развиваться различные легочные заболевания. Ярким примером является антракосиликоз (АС), узелковое интерстициальное заболевание легких, которое может привести к серьезной дыхательной дисфункции. С эффектом воздействия производственной среды на организм человека активно изучаются генетические полиморфизмы антиоксидантной системы, репарации ДНК, контроля клеточного цикла и апоптоза, ферментов биотрансформации ксенобиотиков, метилирования ДНК, и др.

Материалы и методы. Обследованы 66 шахтеров больных АС и 163 здоровых шахтера, которые составили группу сравнения. У испытуемых было взято согласие на исследование. Группы для обследования были подобраны с учетом возраста, пола и статуса курения. Полиморфизм локусов 163C > A (*rs762551*) гена *CYP1A2*, 313A > G (*rs1695*) гена *GSTP1*, 599C > T (*rs1050450*) гена *GPx1*, 215G > C (*rs1042522*) гена *TP53*, 337T > C (*rs1051740*) гена *EPHX1*, 47C > T (*rs4880*) гена *MnSOD* изучали с использованием технологии конкурирующих TaqMan-зондов (ООО «СибДНК», г. Новосибирск). Полиморфизм локусов 444T > G (*rs1130409*) гена *APEX1*, 977C > G (*rs1052133*) гена *hOGG1*, -262C > T (*rs1001179*) гена *CAT*, 553C > G (*rs1805794*) гена *NBS1*, 2073A > T (*rs2227984*) гена *EGFR* определяли методом аллель-специфической ПЦР с использованием наборов «SNP-экспресс» (НПФ «Литех», г. Москва). Математическую обработку материала проводили с использованием программ, SNPstats (<http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats>), «Statistica 10.0» (StatSoft, Inc., USA), MDR (<http://www.multifactorialdimensionalityreduction.org>).

Результаты. Выявлены ассоциации риска развития АС с генотипом TT гена *EGFR* (OR=0,35; 95% CI=0,14–0,90; p=0,069 для кодоминантной модели), с генотипом CC гена *EPHX1* (OR=2,32; 95% CI=1,29–4,19; p=0,0044 для доминантной модели), с генотипом GG гена *NBS1* (OR=0,48; 95% CI=0,26–0,88; p=0,015). В обследованных группах частоты генотипов и аллелей исследованных генов соответствовали равновесию Харди-Вайнберга. Комбинация генных локусов, которая представляет наибольшую патогенетическую значимость для развития АС, была проведена методом MDR. Выявлено статистически значимая модель, включающая взаимодействие локусов *hOGG1 rs1052133*, *EPHX1 rs105174*, *GPx1 rs1050450*, *TP53 rs1042522*. Модель представлена двумя кластерами, имеющими тесное взаимодействие и взаимное усиление эффектов (синергизм). Наибольший вклад в развитие заболевания вносит ген *EPHX1 rs1051740* (H (энтропия) = 2.80%). Анализ данной 4-х локусной модели *EPHX1 rs105174*, *hOGG1 rs1052133*, *GPx1 rs1050450*, *TP53 rs1042522* выявил 11 протективных и 13 рискованных сочетаний предрасполагающих к развитию АС. Таким образом, полученные данные указывают на возможную роль вариантов генов *EPHX1 rs1051740*, *EGFR rs2227984*, *NBS1 rs1805794*, *hOGG1 rs1052133*, *GPx1 rs1050450*, *TP53 rs1042522* в формировании риска АС у шахтеров Кузбасса.

Исследование выполнено при поддержке гранта в форме субсидий на создание научных лабораторий под руководством молодых ученых (постановление Правительства от 19.09.22 № 632)



Опыт преподавания курса «Экологическая генетика» на кафедре генетики и биотехнологии Санкт-Петербургского государственного университета

Л. В. Барабанова¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

l.barabanova@spbu.ru

Необходимость реформирования отечественного высшего образования в рамках двухуровневой Болонской системы заставило адаптировать отработанную десятилетиями систему высшего образования согласно новым обязательным стандартам. В этой связи, при формировании учебных программ подготовки специалистов-генетиков, встала проблема использования имеющегося исторического опыта высшей школы с учетом требований обязательного проведения научной работы в магистратуре. На кафедре генетики и биотехнологии СПбГУ (ранее — кафедра генетики и селекции) при создании магистерских программ были учтены, прежде всего, традиционные научные направления исследований, ведущиеся на кафедре, а также лекционные курсы и практикумы, неразрывно связанные с данными исследованиями. Среди перспективных магистерских программ, объединивших исследования одновременно нескольких научных направлений, стала магистерская программа «Экологическая генетика». Первым руководителем этой магистерской программы была профессор кафедры М. М. Тихомирова, которая долгое время занималась изучением мутационного процесса и генетических механизмов адаптации у дрозофилы. Среди учебных дисциплин того времени следует назвать курсы «Генетические механизмы адаптаций», «Факторы среды и наследственность человека», «Молекулярно-генетические аспекты устойчивости к стрессам», «Цитогенетика популяций» и другие.

Новое содержание магистерской программы было пересмотрено согласно оригинальному подходу к предмету экологической генетики, предложенному профессором С. Г. Инге-Вечтомовым. На основании его идей был разработан курс «Экологическая генетика», читаемый магистрам кафедры вплоть до настоящего времени. В первую очередь, в рамках данной дисциплины, ставилась задача очертить конкретные области экологической генетики, исходя из подходов со стороны экологии и генетики. Совершенно естественно, что за прошедшее время, благодаря бурному развитию генетики, курс претерпевал изменения в таких его разделах, как межорганизменные взаимодействия, биологические факторы мутагенеза, основы генетической безопасности, генетические механизмы дифференциальной чувствительности к действию факторов среды и многие другие аспекты. Во многом акценты в современном курсе «Экологической генетики» смещаются на рассмотрение тонких механизмов процессов, которые происходят на уровне популяций и сложных природных экосистем. Этот раздел предоставляет студентам новые знания в рассмотрении признака как результата взаимодействия разных организмов, входящих в единую экосистему.



Хронология клонального состава популяции черемухово-злаковой тли *Rhopalosiphum padi* (L.) в период эмиграции на злаки в Ленинградской области

А.Б. Верещагина¹, Е.С. Гандрабур¹

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин
aphidabver@gmail.com

С тех пор как у тлей возник партеногенез, их популяции стали существовать в виде клонов, представляющих собой генетические единицы, развивающиеся весной от выхода основательниц из зимовавшего яйца до обоеполого размножения осенью при полном жизненном цикле, как это наблюдается у *Rhopalosiphum padi* (L.) в Ленинградской обл. Клоны и составляющие их онтогенетические морфотипы стали основой уникальной склонности тлей к фенотипической пластичности и вспышкам численности (van Emden, Harrington, 2017). Эмигранты развиваются до имаго на первичном хозяине (черемухе обыкновенной *Padus avium* Mill.) в потомстве основательниц, родившихся из зимовавших яиц, и первыми заселяют злаки. В течение 2005–2023 гг. мы определяли число потомков и их способность к расселению у эмигрантов различных клонов при питании на всходах яровой мягкой пшеницы с Ленинградской 6 в условиях изоляции в крытых помещениях. Скорость размножения оценивали по количеству потомков за первые 14 дней репродукции (P_{14}), способность к расселению — по количеству крылатых потомков, личинок с зачатками крыльев и числу клонов, имеющих в составе потомства крылатых особей. Показано, что значения P_{14} зависят от клона и варьируют между отдельными эмигрантами от 86 до 2644 особей, количество крылатых потомков — от 0 до 13.9%, личинок с зачатками крыльев — от 0 до 45.3%. Корреляции между показателями P_{14} и показателями способности к расселению не обнаружено. Уровень репродукции в ежегодных группах клонов изменялся от 229 ± 19 особей (2021 г.) до 1155 ± 150 особей (2006 г.); объем крылатых имаго от 0.01% (2009 г.) до $1.8 \pm 0.4\%$ (2001 г.); личинок с зачатками крыльев от $2.3 \pm 0.8\%$ до $20.8 \pm 2.2\%$. Установлено значительное влияние года на первые два показателя: $F = 34.7$; $p = .000$ и $F = 14.3$, $p = .000$ соответственно. Доказано существование корреляции между показателем P_{14} и суммой активных температур в период развития эмигрантов на черемухе и пшенице: $r = 0.47$; $r^2 = 0.22$, $p = 0.038$. Выявлена межгодовая хронология изменений количества клонов (от 7.4% в 2009 г. до 96.2% в 2019 г.), имеющих в своем составе крылатых потомков. Отмечена тенденция к повышению количества клонов, имеющих крылатых потомков. Наиболее успешными по трем основным показателям потомства у эмигрантов оказались 2006, 2011, 2013, 2020 и 2022 гг. Наименее успешными — 2008, 2009 и 2023 гг. Таким образом, на примере эмигрантов *R. padi*, показано генетическое разнообразие полноцикловых клонов, составляющих популяцию тли в период эмиграции в агроценозы.

[1] Emden van H. F., Harrington R. (Eds.), Aphids as Crop Pests. 2-nd edition. — Wallingford: CABI Publishing series/ London, UK, 2017, 686 p.



Влияние высоковольтных линий электропередач на воспроизводство клонов двух видов злаковых тлей

Е. С. Гандрабур¹, А. Б. Верещагина¹

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин
helenagandratur@gmail.com

Более 160 млн лет тли поддерживают генетическую структуру популяций путем клонирования в результате партеногенеза. В процессе эволюции в потомстве клонов стали появляться бескрылые и крылатые морфотипы, различные по своей роли в жизни клона. Наиболее значимые из них — размножение и расселение. Изучение влияния современных экологических условий на клоны расширяет представления о перспективах изменчивости статуса тлей как вредителей. По данным ВОЗ электромагнитное загрязнение среды по уровню приближается к загрязнению химическими веществами. Биологические эффекты воздействия электромагнитных полей промышленной частоты мало изучены. С одной стороны, они детерминируются параметрами полей, а с другой — свойствами живых объектов (Еськов, 2003). Результаты наших наблюдений за размножением *R. padi* (2001–2023 гг.) демонстрируют явную тенденцию к росту (начиная с 2009 г.) доли клонов, в которых формируются крылатые потомки. С другой стороны, многолетние данные свидетельствуют о постепенном снижении темпов размножения *R. padi* в природе. Эти явления могут быть связаны не только с изменением климата, но и строительством и распространением электротехнических систем (Стурман, 2019).

Цель работы: выявить реакцию клонов тлей *Rhopalosiphum padi* (L.) и *Metopolophium dirhodum* Walk. на воздействие высоковольтных линий электропередач (ЛЭП). Диагностику клонов тлей проводили по численности и составу потомства отдельных эмигрантов 10 клонов, питавшихся на пшенице с. Ленинградская 6 на участке около Колонистского пруда с вышкой высокого напряжения (110 Кв) и магнитной индукцией (345 Тл) (Стурман, 2019). Обнаружено, что у обитавших под ЛЭП клонов *R. padi* и *M. dirhodum*, уровень репродукции существенно снижался ($t=4.01$, $p=.000$ и $t=7.3$, $p=.000$ соответственно). У *M. dirhodum* уровень репродукции был ниже, чем у *R. padi*, в контроле ($t=7.7$, $p=.000$) и в опыте ($t=10.8$, $p=.000$). Отмечены различия в реактивности отдельных клонов на воздействие ЛЭП, как по количеству бескрылых, так и крылатых потомков. Некоторые личинки *M. dirhodum* погибали на стадии 1 возраста. На черемухе, произрастающей около ЛЭП, тлей найти не удалось.

Полученная информация свидетельствует о необходимости контроля состояния популяций тлей в связи с изменяющимися условиями среды обитания.

1. Еськов Е. К. Специфичность реагирования на электромагнитные поля и их использование биообъектами различной сложности // Успехи современной биологии. — 2003. Т. 123. — № 2. — С. 195–200.
2. Стурман В. И. Пространственное распределение электромагнитных полей промышленной частоты в городе Пушкин (Санкт-Петербург) // Изв. РГО. — 2019. Т. 151. — Вып. 6. — С. 58–68.



Оценка способности вируса SARS-CoV-2 индуцировать повреждения ДНК в лимфоцитах периферической крови у пациентов с COVID-19

Н.А. Илюшина¹, О.В. Горенская¹, О.В. Егорова¹, А.П. Котнова¹, Н.С. Аверьянова¹

¹ ФБУН «Федеральный научный центр гигиены имени Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, г. Мытищи, Россия
olgavg@bk.ru

Инфекционные агенты (вирусы, бактерии, простейшие) являются факторами, способными приводить к формированию нестабильности генома. Согласно литературным данным, коронавирус SARS-CoV-2 нарушает процессы репликации и репарации, вызывает окислительный стресс, что может приводить к накоплению повреждений ДНК в клетках человека. Однако влияние вируса на целостность ДНК изучено недостаточно. Целью работы являлась оценка способности SARS-CoV-2 вызывать повреждения ДНК в лимфоцитах периферической крови человека.

В исследование включены 140 доноров с диагнозом COVID-19 и 24 человека контрольной группы. Уровень фрагментации ДНК в лимфоцитах определяли методом ДНК-комет в щелочной версии. Статистические различия между группами оценивали с помощью теста Манна-Уитни.

У пациентов с COVID-19 выявлено повышение уровня разрывов и щелочнолабильных сайтов в ДНК по сравнению с контролем ($p = 0,025$). Инфицирование SARS-CoV-2 приводит к статистически значимому снижению доли комет с содержанием ДНК в хвосте комет (%ДНКхв.) до 5% и возрастанию доли комет с показателем «%ДНКхв.» выше 10% ($p = 0,000$). Количество комет, у которых этот показатель составляет более 80%, увеличивалось по сравнению с контролем в 3,7 ($p = 0,012$) и 5,9 раз ($p = 0,001$) при легкой и среднетяжелой степени тяжести заболевания, соответственно, что свидетельствует об усилении гибели клеток. Установлена высокая положительная корреляция степени тяжести заболевания с долей комет, содержащих в хвосте более 80% ДНК ($r = 0,993$; $p = 0,001$).

Наличие в анамнезе гипертонии и/или заболеваний желудочно-кишечного тракта не влияло на уровень повреждений ДНК в лимфоцитах пациентов с COVID-19. При наличии хронических заболеваний — ишемической болезни сердца и сахарного диабета II типа, уровень фрагментации ДНК в лимфоцитах повышался ($p = 0,000$) по сравнению с группой пациентов без указанных заболеваний.

Таким образом, инфицирование SARS-CoV-2 приводит к лабилизации структуры ДНК в лимфоцитах периферической крови человека. С повышением степени тяжести заболевания увеличивается доля клеток с высоким уровнем повреждений ДНК, что может приводить к инициации апоптоза и/или некроза иммунокомпетентных клеток. При наличии сопутствующих хронических заболеваний — ишемической болезни сердца и сахарного диабета, усиливаются повреждения ДНК в лимфоцитах, что может быть одной из причин более тяжелого течения COVID-19.



Анализ генотоксичности «оксалиплатина» на люкс-штаммах *E. coli*

Р.Г. Гурбанов¹, П.М. Джамбетова¹

¹ ФГБОУ ВО «Чеченский государственный университет им. А.А. Кадырова», Грозный

ruslan.gurbanov2013@yandex.ru

Оксалиплатин — цитостатик, противоопухолевый препарат третьего поколения и препарат группы платина, который всегда используется в комбинации с другими классами противоопухолевых препаратов. Как и другие препараты этой группы, предотвращает репликацию ДНК (ингибирование фермента тимидилатсинтазы, который нужен для регулирования поступления нуклеотидов для биосинтеза ДНК) и индуцируют апоптоз путем образования монофункциональных аддуктов Pt-ДНК и поперечных связей, что может нарушать процессы транскрипции в виде физического препятствия останавливающего ферменты РНК Pol II, ингибирует биогенез рибосом за счет ингибирования транскрипции рРНК и снижения синтеза 47S рРНК, способен накапливаться в клетках, оказывает химиопротекторное и сенсibiliзирующее действие [2]. В качестве тест-системы были использованы люкс-биосенсоры *Escherichia coli* MG1655, имеющие специально сконструированные плазмиды варианта pBR322, несущие оперон luxCDABE наземной бактерии *Photobacterium luminescens*, поставленные под индуцируемый промотор, активирующийся при появлении в среде определённых химических агентов [1]. В эксперименте были использованы следующие штаммы, регистрирующие окислительный стресс: pSoxS-lux и pKatG-lux, ДНК-тропные агенты: pColD-lux и pRecA-lux. Полученные результаты по штаммам pKatG-lux и pSoxS-lux, регистрирующим окислительный стресс, были отрицательными, и люминесценция наблюдалась на уровне отрицательного контроля, что подтверждается и в других работах с оксалиплатином, но при этом существуют данные на модельных мышах с злокачественной опухолью, где подтверждается опосредованное влияние окружающей микробиоты опухоли на продуцирование организмом-хозяина активных форм кислорода [3]. На штаммах pColD-lux и pRecA-lux, детектирующих генотоксичность, полученные данные были значимыми. Так, при концентрации в 0,0126 М генотоксичность оксалиплатины на данных штаммах была в 2 раза больше, чем положительный контроль диоксидин, и более чем в 4 раза выше отрицательного контроля. Предположительно, оксалиплатин, за счёт изменения конфигурации ДНК, путем внесения аддуктов Pt и поперечных связей, нарушает механизм репликации ДНК, приводящий к разрывам. Таким образом, цитостатик оксалиплатин обладает ДНК-тропными свойствами.

- [1] Игонина Е. В., Марсова М. В., Абилов С. К. Люкс-биосенсоры: скрининг биологически активных соединений на генотоксичность // Экологическая генетика. — 2016. — Т. 14. — № 4. — С. 52–62.
- [2] Alaei M. et al. Nanoliposomal oxaliplatin ameliorates chemotherapy-induced neuropathy // Neuroscience Letters. — 2023. — Т. 812. — С. 137367.
- [3] Jiao L., Li D.-D., Yang C.-L. et al. Tumor Biol., 37 (2016), pp. 8413–8423.



Алгоритм оценки эквивалентности пестицидов по критерию «мутагенность»

Н.А. Илюшина¹, О.В. Егорова¹, Ю.А. Ревазова¹

¹ ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, г. Мытищи, Россия

ilyushina-na@mail.ru

Большую долю на рынке средств защиты растений в Российской Федерации занимают дженерики, которые могут содержать потенциально опасные примеси. Для обеспечения безопасного применения пестицидов-дженериков необходимо оценить их эквивалентность оригинальным продуктам по химическому составу и токсикологическим свойствам, включая мутагенность. В международной практике на первом этапе оценки эквивалентности (содержание примесей < 1%) часто используют только один тест (как правило, тест Эймса). При наличии новых примесей (или превышении уровня релевантных примесей) более 1% используют три теста *in vitro*, и только в случае положительных или сомнительных результатов, полученных *in vitro*, рекомендуется применение метода *in vivo*.

Проведенные нами исследования более 250 технических продуктов (ТП) пестицидов выявили генотоксичность некоторых дженериков. При этом ТП одного и того же действующего вещества вызывали разные эффекты (например, ТП глифосата и мезотриона), что коррелировало с разным содержанием релевантных примесей. Кроме того, не всегда в тестах *in vitro* и *in vivo* были получены однозначные результаты. Например, пендиметалин проявлял мутагенность в тесте Эймса и не вызывал цитогенетических нарушений *in vivo*. ТП изопротурона, имзапира, диазинона, глифосата, мезотриона и ацетамиприда индуцировали образование микроядер *in vivo*, но не генные мутации у бактерий. Выявлены ограничения тест-систем, связанные со специфичной токсичностью пестицидов по отношению к разным организмам или органу-мишени.

Для получения надежных доказательств эквивалентности дженериков по критерию «мутагенность» разработан модифицированный алгоритм. Уже на первом этапе (при содержании примесей < 1%) предлагается использование по меньшей мере двух методов *in vitro* (или одного *in vitro* и одного *in vivo*) на разных тест-объектах, позволяющих оценить различные виды генетических повреждений. При получении сомнительных результатов обязателен дополнительный тест. Полученные результаты сравнивают с показателями для оригинального продукта. Если нет доступа к необходимой информации о генотоксичности оригинального пестицида, обязательным должно быть тестирование *in vivo* для определения класса опасности по критерию «мутагенность» согласно действующей в нашей стране системе классификации и сравнение с классом опасности оригинального продукта. Предлагаемый алгоритм успешно апробирован и применяется для оценки эквивалентности ТП пестицидов по критерию «мутагенность» с целью предотвращения поступления на потребительский рынок опасных для генетического здоровья человека веществ.



Phytochemicals in the combat against SARS-CoV-2

Ш. Исса¹, Т.В. Матвеева¹

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

shaza.issa98@outlook.com

The emergence of novel coronavirus SARS-CoV-2 was first reported in Wuhan, China, in December 2019, causing a viral pneumonia outbreak of COVID-19, and leading to a global pandemic declaration by the World Health Organization (WHO) in March 2020. Having caused millions of deaths and confirmed cases worldwide, COVID-19 has caused profound global impacts. Despite approving several preventive vaccines around the world, the virus's ability to mutate remains a challenge, as it could potentially reduce vaccines' efficacy, which highlights the urgent need for effective treatments. SARS-CoV-2 has a single-stranded, positive-sense RNA genome encoding a diversity of proteins. Among which, the main protease (Mpro) plays a critical role in viral replication. Mpro's essential function, combined with its absence of homologs in humans, makes it a promising target for antiviral drugs. Phytochemicals from medicinal plants, have repeatedly shown therapeutic efficiencies for a wide variety of diseases, and accordingly, have been integrated in pharmaceutical industries. In our research, a comprehensive analysis of the literature was conducted to compile a database of phytochemicals exhibiting anti-Mpro efficacy. The literature reviewed included both molecular docking analyses and *in vitro* studies. Subsequently, our compiled database contained over 50 compounds of different classes, including: phenols (including flavonoids and tannins), alkaloids, terpenoids, lactones and organosulfur compounds. They were later screened against the Japanese KNAPSAck Core System, an integrated metabolite-plant species database, in order to cross them with edible plants, for further *in vitro* application using plants that are commonly cultivated in the Russian Federation. This database could serve as a source for potential SARS-CoV-2 Mpro inhibitors to be tested both *in vitro* and *in vivo*.



Изменения в метаболизме имаго *D. melanogaster*, перенесших стресс в личиночном возрасте

Е.К. Карпова¹, М.А. Бобровских¹, Е.В. Бурдина¹, В.М. Ефимов В.М.¹, Н.Е. Грунтенко¹

¹ ФИЦ ИЦИГ СО РАН, Новосибирск, Россия

karpova@bionet.nsc.ru

Одним из ключевых отличий онтогенеза насекомых с полным превращением от животных других таксонов является метаморфоз. Сохраняются ли при этом метаболические изменения, произошедшие в организме насекомого под влиянием неблагоприятных внешних воздействий до имагинальной линьки, или же метаморфоз их «обнуляет»? Было обнаружено, что у самок *Drosophila melanogaster* под влиянием теплового стресса, перенесенного в 3-м личиночном возрасте, достоверно снижается потребление пищи в первые сутки после вылета, тогда как у самцов подобного эффекта не наблюдается. Мы предположили, что наблюдаемые изменения в пищевом поведении самок, перенесших стресс до прохождения метаморфоза, могут быть связаны с изменениями в работе инсулинового каскада, контролирующего углеводно-жировой метаболизм и одновременно являющимся одним из компонентов ответа на стресс. Чтобы проверить это предположение, мы изучили влияние личиночного стресса на содержание липидов и углеводов, а также на экспрессию ключевых генов инсулинового сигнального каскада, *dfoxo*, *dilp6* и *dInR*, у самок *D. melanogaster* и обнаружили значительные изменения во всех исследованных признаках. Таким образом, мы можем заключить, что тепловой стресс, перенесенный личинками дрозофилы, не «обнуляется» метаморфозом и вызывает серьезные изменения в углеводно-жировом обмене взрослых особей, по-видимому, обусловленные изменениями в работе инсулиновой системы.

Работа поддержана грантом РФФ № 23-24-00320.



Исследование генотоксической активности новых эфиров на основе циклоалкендикарбоновых кислот

М.И. Ковалева¹, А.А. Фирстова²

¹ Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова

² Ярославский государственный технический университет

kovalevamargo@rambler.ru

Одним из перспективных направлений синтеза биологически активных веществ является образование эфирной или сложноэфирной группы, что позволяет конструировать вещества, содержащие в молекулах одновременно с фармакофорными фрагментами соответствующих карбоновых кислот структурные элементы спиртов. В научной литературе приводятся многочисленные примеры применения эфиров карбоновых кислот: описаны способы получения и применения имидов карбоновых кислот в качестве противоопухолевых препаратов, которые обеспечивают стабилизацию опухолевого процесса и/или поддержание «дремлющего» состояния опухоли. В ходе первого этапа этой работы были предложены структуры и разработаны эффективные методы синтеза неописанных ранее эфиров на основе *N*-замещенных имидов циклоалифатических карбоновых кислот с высокими выходами [1], а также на основе сервиса PASS online (<https://www.way2drug.com/passonline/>) был сделан компьютерный прогноз спектра их биологической активности.

Целью данной работы является исследование генотоксической и митозмодифицирующей активности препаратов, которые сочетают в себе имидный цикл, аминокислотный остаток и эфирную группу: Этиловый эфир (1,3-диоксо-1,3,3а,4,7,7а-гексагидро-изоиндол-2-ил)уксусной кислоты (I), Этиловый эфир 2-(3,5-Диоксо-4-азатрицикло[5.2.1.0^{2,6}]дец-8-ен-4-ил)-3-метилбутановой кислоты (II), Этиловый эфир 2-(1,3-Диоксо-3а,4-дигидро-1*H*-изоиндол-2(3*H*,7*H*,7а*H*)-ил)-3-фенилпропановой кислоты (III), Этиловый эфир 2-(1,3-Диоксо-3а,4-дигидро-1*H*-изоиндол-2(3*H*,7*H*,7а*H*)-ил)-3-метилпентановой кислоты (IV), Этиловый эфир 2-(3,5-Диоксо-4-азатрицикло[5.2.1.0^{2,6}]дец-8-ен-4-ил)-3-метилпентановой кислоты (V).

Исследование проведено с использованием системы методов, включающей тест учета ХА и митотоксичности у лука *Allium cepa* (L.) (также изучалась способность препаратов модифицировать пролиферативную активность — для этого оценивали соотношение фазных индексов), тест учета ДЛМ у *Drosophila melanogaster* (Meigen) и тест учета выживаемости и генных мутаций у *Chlorella vulgaris* (Bejer.). Препараты исследовались в концентрациях 0.1%, 0.01%, 0.001% растворы, приготовленные на 0,25% водном этаноле. Данный растворитель был выбран ввиду лучшей растворимости соединений. В качестве контрольного опыта использовалась вода и 0,25% водный этанол.

Выявлено, что все изученные эфиры не увеличивают частоту ДЛМ у *Drosophila*. В *Allium* тесте, при воздействии высоких концентраций препаратов, отмечается задержка прохождения клетками фаз митоза, регистрируется острая токсичность, при низких концентрациях наблюдается нормальный рост корневой системы, несмотря на некоторое снижение пролиферативной активности. Большинство предложенных препаратов достоверно увеличивают частоту мутаций у *Chlorella* и частоту ХА у *Allium cepa*, при этом линейной зависимости частоты хромосомных aberrаций от концентрации не отмечено. Таким образом, выявлено, что препараты II–V обладают митозмодифицирующей и мутагенной активностью в использованных растительных тест-системах. Препарат I не обладает выраженной мутагенной активностью, при этом снижает пролиферацию, следовательно, может быть рекомендован для дальнейшего исследования его биологической активности и генетической безопасности.

[1] Firstova A. A., Kofanov E. R., Zakshevskaya V. M., Kovaleva M. I. Russian Journal of Bioorganic Chemistry. 2023. V. 49. pp. 65–75.



Применение метода ДНК-комет в эксперименте индуцированного мутагенеза

М. Н. Курчатова¹

¹ Саратовский государственный медицинский университет им В.И. Разумовского Минздрава РФ, Саратов

kurchatova.marya@yandex.ru

Метод ДНК-комет основан на обнаружении разрывов ДНК, образовавшихся при воздействии широкого спектра повреждающих агентов химической, физической и биологической природы. В основе метода лежит проведение гель-электрофореза единичных лизированных клеток. ДНК визуализируют посредством окрашивания флуоресцентным красителем, после чего образцы изучают микроскопически. При наличии разрывов ДНК нарушается структурная организация хроматина и формируются фрагменты ДНК. В электрическом поле фрагменты ДНК вытягиваются по направлению к аноду, что и придает наблюдаемым объектам вид «комет». Метод ДНК-комет применялся для подтверждения генопротекторного действия экстракта гинкго двулопастного, маслины культурной, горечавки желтой и др.

Целью работы являлся анализ повреждения ДНК в клетках костного мозга мышей в эксперименте индуцированного мутагенеза при использовании экстракта из цветков бессмертника песчаного.

Объектами исследования выбраны самцы беспородных мышей, которые были поделены на 4 группы. Сухой экстракт из бессмертника растворяли в воде и вводили в дозе 100 мг/кг перорально в течение 5 суток. В группе позитивного контроля для индукции повреждений ДНК вводили генотоксикант диоксидин в дозе 200 мг/кг внутривбрюшинно. Животным групп негативного контроля вводили эквивалентные объемы воды для инъекций. Экспериментальной группе вводили экстракт в дозе 100 мг/кг перорально и диоксидин в дозе 200 мг/кг внутривбрюшинно. Экстракт получен из цветков бессмертника песчаного фирмы ООО «Красногорсклексредства» (согласно патенту «Способ получения сухого экстракта из растительного сырья, обладающего биологической активностью», № 2482863).

По результатам исследования определено, что экстракт бессмертника в дозе 100 мг/кг не проявлял ДНК-повреждающую активность в клетках костного мозга мышей по сравнению с группой негативного контроля (13,69% Tail DNA по сравнению с 11,12% Tail DNA). Диоксидин проявил ДНК-повреждающую активность (18,05% Tail DNA) по сравнению с группой негативного контроля. Совместное введение экстракта бессмертника и диоксида привело к достоверному снижению повреждений ДНК в клетках костного мозга до значения 11,04% Tail DNA по сравнению с группой позитивного контроля.

В заключении можно сделать вывод о способности экстракта бессмертника в дозе 100 мг/кг снижать количество ДНК-повреждений, вызванных введением генотоксиканта диоксида, в клетках костного мозга мышей.



Ядрышковые характеристики буккальных эпителиоцитов и частота повреждений их митохондриальной ДНК – новые способы оценки загрязнения окружающей среды и генетического гомеостаза организма человека

А.В. Ларина¹, В.Н. Калаев¹, Е.А. Калаева¹

¹ Воронежский государственный университет, Воронеж

larina.anyuta2010@yandex.ru

Среди методов оценки загрязнения окружающей среды и генетического гомеостаза организма особое место занимает микроядерный тест буккального эпителия человека, что связано с его простотой, информативностью и достаточной высокой чувствительностью к неблагоприятным факторам. Однако помимо подсчета клеток с ядерными аномалиями, являющимися маркерами генетической нестабильности, для оценки генотоксичности окружающей среды и генетического гомеостаза организма возможно использовать еще два показателя — ядрышковые характеристики (среднее число ядрышек на клетку) и частоту повреждений митохондриальной ДНК (мтДНК). Были проведены исследования ядрышковых характеристик буккальных эпителиоцитов людей в районах г. Воронежа, отличающихся по социально-экологической комфортности, интегральной медико-экологической оценке окружающей среды, шумовому, суммарному аэротехногенному и пылевому загрязнению. Было показано влияние социально-экологической комфортности городской среды Воронежа и загрязнения районов пылью на ядрышковые характеристики буккальных эпителиоцитов человека. В районах с низкой социально-экологической комфортностью и с высоким уровнем загрязнения отмечалось угнетение ядрышковой активности, что выражалось в уменьшении среднего числа ядрышек на клетку. Предлагается использовать показатель «среднее число ядрышек на клетку» в буккальных эпителиоцитах для проведения биомониторинга состояния окружающей среды.

Оценку уровня повреждений мтДНК ранее применяли для выявления генотоксичности химических соединений в опытах на лабораторных животных и растениях. Частота повреждений мтДНК определяется на основании результатов Real-time ПЦР. С использованием специально подобранных праймеров амплифицировали два фрагмента (короткий и длинный) в районе D-петли ДНК митохондрий. На основании значений C_t вычисляли частоту повреждений мтДНК. Нами впервые были проведены сравнительные исследования результатов микроядерного теста в буккальном эпителии и частоты повреждений митохондриальной ДНК и выявлены корреляционные связи повреждений мтДНК с частотой встречаемости клеток с аномалиями ядра. Сходство в изменении частот повреждений мтДНК и клеточных аномалий указывает на общность причин возникновения молекулярных и клеточных повреждений генетического материала и позволяет говорить о возможности использования указанных характеристик для прогноза и уточнения значений друг друга.



Сравнение генотоксического действия коммерческих образцов Понсо 4R и Тартразин в культуре лимфоцитов человека в условиях цитокинетического блока

Т.А. Никитина¹, М.А. Коняшкина¹

¹ ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, Москва

tnikitina@cspmz.ru

Расширение спектра применения пищевых добавок и, в частности, пищевых красителей (ПК), повышает риск увеличения экспозиции человека к генотоксикантам, поскольку в реальной жизни в контакте с человеком находятся не чистые вещества с доказанной генетической безопасностью, а сложные смеси неизвестного состава, даже незначительные примеси в которых могут стать дополнительным источником либо модификатором эффектов нестабильности генома.

Поэтому целью настоящей работы является анализ генотоксических эффектов синтетических ПК Тартразина (E102) и Понсо 4R, разрешенных к применению в РФ и приобретенных в розничной сети, в микроядерном тесте на клетках крови человека, культивированных в условиях цитокинетического блока параллельно в присутствии системы метаболической активации S9 и без нее.

Показаны генотоксические эффекты тартразина на самых малых из исследуемых до настоящего времени концентрациях от $0,256 \times 10^{-4}$ до $0,00064$ мг/мл; дозозависимая супрессия митотической и пролиферативной активности лимфоцитов; а также дозозависимая U-образная кривая изменения частоты апоптоза.

При метаболической активации Понсо 4R в концентрации $0,0032$ мг/мл вызывал возрастание частоты двуядерных клеток с НПМ. При этом по сравнению с контрольным уровнем наблюдалось повышение суммарной частоты двуядерных лимфоцитов с генетическими повреждениями, но уменьшение их частоты при действии $6,4 \times 10^{-4}$ мг/мл.

В культурах, не содержащих S9, но содержащих Тартразин, возрастала частота ускоренно делящихся клеток с НПМ (прошедших за время культивирования в присутствии цитохалазина В два и более митозов): при экспозиции к $0,0032$ мг/мл красителя — повышение частоты четырехъядерных клеток, а в присутствии $0,016$ мг/мл и $0,4$ мг/мл — частоты полиядерных. В культурах, содержащих $0,4$ мг/мл красителя, увеличивалась частота полиядерных лимфоцитов с МЯ. При экспозиции к концентрации $0,0032$ мг/мл увеличивалась частота клеток как с НПМ, так и со всеми цитогенетическими повреждениями.

При сравнении культур, экспонированных к Понсо в присутствии S9 и без нее, выявлено достоверное повышение частот двуядерных лимфоцитов с микроядрами в концентрациях $1,28 \times 10^{-4}$ мг/мл и $6,4 \times 10^{-4}$ мг/мл и снижение при $0,0032$ мг/мл.

Нами выявлены повреждающие генетические эффекты коммерческого образца Понсо 4R в культуре лимфоцитов в концентрациях, сопоставимых с эффектами на животных и на растениях.

Эффекты, полученные при экспозиции к ПК Тартразина (E102) и Понсо 4R, можно отнести как к действию метаболитов, полученных при действии системы S9, так и примесей, содержащихся в изучаемых образцах.



Влияние внеклеточных ДНК на фенотипические особенности *Xanthomonas campestris M28*

К.Ю. Панькина¹, А.А. Ломакин¹, Р.А. Зинин¹, М.П. Данилова¹

¹ Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва, г. Саранск
kirapankina@outlook.com

Введение: Бактерии рода *Xanthomonas* синтезируют гетерополисахарид ксантан, имеющий широкое практическое применение в пищевой, нефтегазовой промышленности и др. Биологическая роль ксантана заключается в формировании биопленки, в матрикс которой входит экстраклеточная или внеклеточная ДНК (вкДНК). Внеклеточная ДНК играет важную роль в клеточной адгезии и поддержании стабильности и целостности структуры, а также является важнейшим субстратом для естественной генетической трансформации. На сегодняшний день установлено, что перенос генов происходит с повышенной эффективностью в биопленках. В природных условиях этот механизм обеспечивает расширение адаптационных возможностей клеток путем естественного отбора, а также формирование новых фенотипических признаков. Применение горизонтального переноса в биотехнологии позволит решить широкий спектр производственных задач, включая повышение продуктивности бактерий.

Цель исследования: изучить влияние препаратов внеклеточной ДНК на фенотипические характеристики и продуктивность *Xanthomonas campestris M28* (Хсс М28).

Материалы и методы: Выделение ДНК из бактериальных клеток проводили фенол-хлороформным методом. Модификацию ДНК проводили в камере CL-1000 Ultraviolet CrossLinker ($\lambda = 245$ нм) в течение 1, 6 и 10 мин. ДНК добавляли в концентрации 50 нг/мкл в среду для культивирования. Культивирование бактерий проводили на чашках Петри и в конических колбах на 250 мл, содержащих агаризованную и жидкую (культивировали при 250 об/мин, 28 °С, 72 часа) среды (20 г/л сахарозы, 10 г/л пептона и 5 г/л дрожжевого экстракта), соответственно. В плотную среду добавляли агар-агар в концентрации 15 г/л. Продуктивность определяли весовым методом, фенотип оценивали с помощью светового микроскопа Carl Zeiss Primo Star.

Результаты: Препараты тотальной модифицированной и немодифицированной ДНК не повлияли на размеры и формы бактерий. Палочковидные бактерии *Xanthomonas campestris M28* имели размеры от 0,822 мкм до 1,102 мкм.

При добавлении немодифицированной ДНК в концентрации 50 нг/мкл в среду для культивирования продуктивность *Xanthomonas campestris M28* повысилась на 15,7%. При добавлении УФ-модифицированной ДНК ксантан-продуцирующей способность снижалась.

Выводы: Модифицирующее бактерии действие внеклеточной ДНК зависит от структурных особенностей препаратов ДНК, что определяет перспективы их использования для решения широкого спектра задач практической биотехнологии.

Наиболее эффективной для повышения продукции ксантана оказалась обработка *Xanthomonas campestris M28* тотальной ДНК бактериального происхождения, тогда как использование УФ-модифицированной ДНК приводило к снижению выхода полисахарида.



Исследование протекторного эффекта антиоксидантов на ДНК-повреждающее действие диоксидина в клетках *Escherichia coli*

С.В. Смирнова¹, Е.В. Игонина¹, А.А. Петрачкова¹, С.К. Абилев¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова
Российской академии наук, г. Москва

s.v.smirnova.genet@gmail.com

Целью данного исследования являлось изучение действия антиоксидантных веществ различной природы на повреждения ДНК, индуцированные диоксидином, в клетках люминесцентного биосенсорного штамма *E. coli* K12 MG1655 (pColD:: *lux*). Данный штамм содержит гибридную плазмиду, несущую *luxCDABE* оперон фотобактерии *Photorhabdus luminescens*, поставленный под контроль промотора гена колицина *cdsA* (*colD*), что позволяет по люминесценции штамма судить об активации SOS-системы репарации клетки в ответ на повреждение ДНК [1]. В качестве индуктора SOS-ответа использовался препарат диоксидин ($2,25 \times 10^{-4}$ моль/л), инициирующий свободнорадикальное окисление, приводящее к односторонним разрывам ДНК. Величину протекторного эффекта тестируемых веществ оценивали по отношению индуцированного диоксидином уровня люминесценции клеток биосенсора, обработанных антиоксидантом, к уровню люминесценции без антиоксиданта.

В качестве антиоксидантов протестированы 8 веществ: спермин, спермидин, цистеин, глутоксим, коэнзим Q10, ликопин, куркумин, кофеин; каждый из которых показал антигенотоксическое действие, снижая уровень повреждения ДНК, регистрируемый по люминесценции биосенсора *E. coli* MG1655 (pColD:: *lux*), на 13–98% в зависимости от использованного препарата и его концентрации.

Наибольшую эффективность показал пигмент из группы каротиноидов, ликопин, демонстрируя снижение в 2 раза уровня индуцированного диоксидином SOS-ответа на минимальной из используемых концентрации 0,0005 моль/л. Уменьшение люминесценции клеток биосенсора на 47% зафиксировано для аминокислоты цистеина в концентрации 0,005 моль/л. Также высокую эффективность показали представители группы полиаминов, снижая уровень повреждения ДНК, вызываемый применением диоксидина, в 1,7 раз начиная с концентрации 0,04 моль/л для спермина и 0,03 моль/л для спермидина. На 52% уменьшал ответ биосенсорного штамма *E. coli* на диоксидин кофеин в концентрации 0,05 моль/л.

В данном исследовании наименьшую эффективность в снижении индуцированного SOS-ответа бактериальных клеток продемонстрировали коэнзим Q10 и глутоксим, уменьшая степень индукции экспрессии гена колицина, зафиксированную по уровню люминесценции, на 23%.

Таким образом, в данной работе впервые показана потенциальная антигенотоксическая активность 8 препаратов, принадлежащих к различным группам химических веществ, в том числе соединений, для которых ранее было показано антиоксидантное действие на панели из 2 биосенсорных штаммов *E. coli* K12 MG1655 (pSoxS:: *lux*) и (pKatG:: *lux*), специфично регистрирующих увеличение уровня супероксид анион-радикала и пероксидов в клетке, соответственно [2]. Полученные результаты могут быть использованы в дальнейших исследованиях с применением широкого спектра генотоксикантов, а также на других моделях *in vitro* с целью более детального понимания механизмов потенциального протекторного действия.

[1] Котова, В. Ю., Манухов, И. В., и Завильгельский, Г. Б. (2009). Lux-биосенсоры для детекции SOS-ответа, теплового шока и окислительного стресса. Биотехнология, (6), 16–25.

[2] Абилев, С. К., Свиридова, Д. А., Гребенюк, А. Н., Игонина, Е. В., Смирнова, С. В. (2019). Изучение про- и антиоксидантной активностей противолучевых средств с помощью lux-биосенсоров. Радиационная биология. Радиоэкология, 59(5), 475–487.



Особенности сообщества арбускулярных микоризных грибов, ассоциированных с растениями трибы Heliantheae

С. В. Сокорнова¹, Д. М. Малыгин¹

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург
mymryk@gmail.com

Мутуалистические отношения инвазионных растений с арбускулярными микоризными грибами (АМГ) могут быть фактором, способствующим их успешному распространению, за счет улучшения доступности питательных веществ и здоровья растений, влияния на физиологические процессы. Например, *R. intraradices* стимулирует у *A. annua* образование специализированного метаболита артемизина (Mandal et al., 2015), а инокуляции *R. irregulare* оказывает положительное влияние на физиологическое состояние подсолнечника *H. annuus* (Vangelisti et al., 2018). Heliantheae, наряду с масличными культурами рода *Helianthus*, содержит вредоносные виды *Ambrosia* и *Xanthium*, для которых уточняется влияние АМГ-сообщества на успешность их распространения (Fumanal et al., 2006; Tang et al., 2020). Целью работы было определение состава АМГ-сообществ, ассоциированных с *Helianthus annuus*, *H. maximiliani* и *Ambrosia artemisiifolia* (триба Heliantheae). Частоту и интенсивность микоризации корней определяли согласно Trouvelot et al. (1986). Видоидентификацию проводили с помощью анализа ДНК-последовательностей по локусу малой субъединицы РНК, полученных вложенной ПЦР с различными комбинациями праймеров (Santos-González et al. 2007; Lee et al., 2008). Секвенирование осуществляли по Сэнгеру на базе ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.

Частота и интенсивность микоризации в большей степени определялась характером произрастания, чем видом растений. Наряду с АМГ в корнях растений присутствовали темноокрашенные септированные эндомитные грибы. Состав АМГ-сообществ у анализируемых растений одной трибы близок по составу. Наиболее широко представлены *Funneliformis mosseae*, *Rhizophagus* и *Glomus*, реже встречались виды *Septoglomus* и *Claroideoglomus*. В целом АМГ сообщества во многом соответствовали данным по *A. artemisiifolia*, представленным Kong et al. (2022). Виды порядка Diversisporales, довольно часто ассоциированные с видами близкородственной трибы Astereae у Heliantheae, выявлены не были.

Таким образом, АМГ сообщество, ассоциированное с трибой Heliantheae, содержат преимущественно широкораспространенные таксоны семейства Glomeraceae. На наш взгляд, мутуалистические отношения с этими грибами, несомненно, позитивно отражаются на развитии растений трибы, но не дают конкурентных преимуществ по отношению к аборигенным видам, как это наблюдается для Astereae.

- [1] Fumanal B., Plenchette C., Chauvel B., Bretagnolle F. Which role can arbuscular mycorrhizal fungi play in the facilitation of *Ambrosia artemisiifolia* L. invasion in France? *Mycorrhiza*. 2006 17(1):25–35.
- [2] Kong L., Chen X., Heininger Yerger E., Li Q., Chen F., Xu H., Zhang F. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance the growth of the exotic species *Ambrosia artemisiifolia* J Plant Ecol. 2022 15(3):581–595.
- [3] Lee J., Lee S., Young J. P. Improved PCR primers for the detection and identification of arbuscular mycorrhizal fungi. *FEMS Microbiol Ecol*. 2008 65(2):339–49.
- [4] Mandal S., Upadhyay S., Wajid S., Ram M., Jain D. C., Singh V. P., Abdin M. Z., Kapoor R. Arbuscular mycorrhiza increase artemisinin accumulation in *Artemisia annua* by higher expression of key biosynthesis genes via enhanced jasmonic acid levels. *Mycorrhiza*. 2015 25(5):345–57.
- [5] Santos-González J. C., Finlay R. D., Tehler A. Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal communities in roots in a seminatural grassland. *Appl Environ Microbiol*. 2007 73:5613–5623.
- [6] Tang J. S., Ma M. Genetic diversity and genetic differentiation of invasive weed *Xanthium italicum* in China. *C R Biol*. 2020 343(1):63–72.
- [7] Trouvelot A., et al. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes de détermination ayant une signification fonctionnelle. INRA: Paris. 1986 217–221.

Симпозиумы 3, 18: **Биоинформатика и системная биология**
Symposia 3, 18: **Bioinformatics and Systems Biology**



Dissecting the genetic regulatory basis of trait development in rice

Dijun Chen¹

¹ *Nanjing University, China*

dijunchen@nju.edu.cn

Rice (*Oryza sativa*) is a highly significant crop worldwide and serves as an excellent model species for studying plant growth and development. The regulation of agronomic traits is intricately governed by gene regulatory networks (GRNs), with cis-regulatory DNA sequences like promoters and enhancers playing a crucial role in controlling gene expression patterns in a spatial and temporal manner. Understanding the genetic regulatory mechanisms underlying trait development holds great promise for facilitating the rational design of desired agronomic traits and improving rice grain yield through molecular breeding. In this study, we employed the UMI-ATAC-seq method, a modified ATAC-seq protocol developed in our lab, to systematically map chromatin accessibility profiles across various tissues throughout the life cycle of three representative rice cultivars. Using a total of 145 ATAC-seq datasets, we identified 2,969,381 unique open chromatin regions (OCRs), which collectively represent approximately 15% of the rice genome. By integrating RNA-seq data from matched tissues, we employed gene expression correlation and chromatin accessibility to predict potential target genes for regulatory elements across all tissues. Furthermore, through TF footprinting analysis, we inferred tissue- or stage-specific regulatory networks and identified OCRs that exhibited polymorphisms between the indica and japonica rice subspecies, which are associated with specific traits. Our analysis also revealed that variants associated with agronomic traits preferentially reside in tissue-specific OCRs. Leveraging this information, we successfully identified causal associations between 209 complex agronomic traits and noncoding regulatory variants using the OCR landscape. These findings not only establish a valuable foundational resource for the plant research community but also provide actionable regulatory variants for precision molecular breeding efforts.



Computer-based reconstruction and analysis of gene networks using the cognitive system ANDSystem

V.S. Venzel^{1,2}, P.S. Demenkov^{1,2}, T.V. Ivanisenko^{1,2}, E.A. Antropova¹, A.L. Makarova¹,
A.V. Adamovskaya^{1,2}, N.A. Kolchanov¹, V.A. Ivanisenko^{1,2}

¹ *Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia*

² *Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia venzel@bionet.nsc.ru*

Cognitive computer systems are gaining increasing interest in the field of biomedicine for the reconstruction and analysis of gene networks. These systems offer a full cycle of knowledge engineering, including entity recognition, relationship establishment, knowledge integration, and presentation in the form of semantic networks or a knowledge graph. Additionally, they provide a range of tools for data analysis and interpretation, such as gene prioritization and identification of overrepresented biological processes or diseases.

We have developed a cognitive software and information system, ANDSystem [1], which considers 12 types of objects, including organisms, cells/tissues, diseases, genes, metabolites, drugs, etc. The system extracts knowledge about physical interactions, catalytic reactions, regulatory relationships, and more, from scientific texts. The ANDSystem knowledge base, created based on large-scale automatic analysis of over 30 million PubMed abstracts and full-text articles from PMC, as well as hundreds of factographic databases in the field of biology and biomedicine, is a unique resource containing formalized knowledge about more than 50 million interactions between molecular-genetic objects of different organisms. The developed system surpasses similar known systems in the world in terms of the number of considered types of relationships and types of objects.

ANDSystem has been used to solve a wide range of problems in the reconstruction of the molecular mechanisms of diseases, the interpretation of omics data, and other problems in the field of biomedicine. In particular, we have used ANDSystem to study the molecular genetic mechanisms of pathogen-host interaction. Reconstruction of signaling pathways for the regulation of cellular biological processes by viral proteins can help in the search for new pharmacological targets. Using ANDSystem, we reconstructed associative gene networks describing the potential regulation of the apoptosis process by HCV viral proteins. Expanding the given gene network with consideration of information about aberrantly methylated genes in hepatocellular carcinoma enabled the prioritization of new promising pharmacological targets for liver cancer therapy. Furthermore, we have reconstructed potential molecular mechanisms of dysfunction of signaling pathways in hepatocellular carcinoma.

In conclusion, ANDSystem is a powerful cognitive system for the reconstruction and analysis of gene networks, with a unique knowledge base that surpasses similar known systems in the world. The system has been successfully applied to solve a wide range of problems in the field of biomedicine, and we continue to explore its potential in the study of molecular genetic mechanisms of diseases.

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

The bioinformatics analysis was supported by the budget project, FWNR-2022–0020.



Вариабельность структурной организации митохондриального генома сои (*Glycine max*)

В.В. Александрович¹, М.Г. Синявская¹, И.М. Голоенко¹, О.Г. Давыденко²

¹ ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

² ООО «Соя-Север Ко», Колодищи, Беларусь

cytoplasmic@mail.ru

Митохондриальный геном растений характеризуется сложной структурной организацией. Ввиду наличия большого количества повторяющихся участков ДНК, растительный митохондриальный геном может существовать не в виде одной кольцевой молекулы, а наоборот, подвергаться частым перестройкам, включая инверсии и возникновение субгеномов [1, 2]. В данном исследовании была поставлена цель изучить последовательность и структурную организацию митохондриального генома сои (*Glycine max* (L.) Merr) путем высокопроизводительного секвенирования.

Материалы и методы. Материалом исследования служила митохондриальная ДНК сорта Легенда, выделенная по методике Triboush и соавторов [3]. Секвенирование осуществлялось на платформах Illumina Miseq и MinION (Oxford Nanopore Technologies). Для обработки прочтений и сборки контигов использовались программы SPAdes, Flye и Canu. Визуализация контигов проводилась в SnapGene и Bandage.

Результаты и обсуждение. В результате анализа коротких прочтений было получено 22 контига размером от 440 до 65372 п. н. Один из контигов имеет размер 62661 п. н. и образует кольцевую молекулу. Остальной же митогеном подвержен многочисленным структурным перестройкам, что подтверждается результатами выравнивания контигов на длинные прочтения, полученные путем нанопорового секвенирования. При выравнивании обнаружены различные варианты расположения контигов относительно друг друга, включая инверсии, вставки и перестройки протяженных участков митохондриальной ДНК. Это позволяет утверждать, что митогеном сои существует в виде множества структурных конформаций *in vivo*.

Выявлено также наличие крупных повторов (1005–24214 п. н.), которые могут играть роль в рекомбинации митохондриального генома. Учитывая многокопийность ряда контигов, предполагаемый размер генома составил более 540 тысяч п. н.

Выводы. Митохондриальный геном сои представляет собой подвижную структуру, подверженную рекомбинационным перестройкам в областях многочисленных повторов. Имеющиеся на данный момент варианты сборки полной нуклеотидной последовательности митохондриальной ДНК не отражают ее структуры *in vivo* и наличие протяженных повторов. Планируемый нами в дальнейшем биоинформатический и ПЦР-анализ позволит получить сборку митохондриального генома, наиболее полно отражающую многокопийность его участков и возможные конформационные изменения.

[1] Complete mitochondrial genome of *Agrostis stolonifera*: insights into structure, Codon usage, repeats, and RNA editing / J. Li [et al.] // BMC Genomics. — 2023. — Vol. 24, № 1. — P. 466.

[2] Highly active repeat-mediated recombination in the mitogenome of the holoparasitic plant *Aeginetia indica* / Y. Zhong [et al.] // Front. Plant Sci. — 2022. — Vol. 13 — P. 988368.

[3] Triboush, S. O. A method for isolation of chloroplast DNA and mitochondrial DNA from sunflower / S. O. Triboush, N. G. Danilenko, O. G. Davydenko // Plant molecular biology reporter. — 1998. — Vol. 16. — P. 183–189.

Работа выполнена в рамках ГПНИ «Биотехнологии 2», 2021–2025 г., подпрограмма «Геномика, эпигеномика, биоинформатика», задание 2.1.3, задание 2.10 (7).



Антифаговые системы защиты клубеньковых бактерий *Sinorhizobium spp.*

А.П. Априлкова^{1, 2}, В.С. Мунтян¹, М.Е. Владимирова¹, А.Н. Мунтян¹, М.Л. Румянцева¹

¹ ФГБНУ ВНИИСХМ, Санкт-Петербург

² СПбПУ, Санкт-Петербург

aprelkova02@ya.ru

Почвенные сапрофитные бактерии рода *Sinorhizobium spp* фиксируют атмосферный азот в симбиозе с растениями-хозяевами из группы перекрестной инокуляции растений семейства Бобовые. Бактерии данного рода являются типичными представителями почвенной среды, где на численность их популяций могут влиять бактериофаги. В ходе эволюции бактерии выработали различные механизмы защиты от проникновения в клетку чужеродных нуклеиновых кислот. В последние годы были открыты различные специфичные антифаговые системы защиты бактериальной клетки, среди которых имеются те, которые вовлечены в «иммунный» ответ (врожденный и адаптивный), химическую защиту клетки, в формирование сигнальных систем защиты, а также системы abortивной инфекции и иные системы, для которых механизмы действия не известны. Системы антифаговой защиты азотфиксирующих клубеньковых бактерий рода *Sinorhizobium spp.* и их разнообразие практически не изучены. Целью данного исследования было выявить спектр антифаговых систем в геномах клубеньковых бактерий высокоэффективных штаммов бактерий рода *Sinorhizobium spp.*, выделенных в двух центрах происхождения культурных растений, а именно в Переднеазиатском и Среднеазиатском (согласно исследованиям Н. И. Вавилова, ПАГ и САГ, соответственно).

Молекулярно-биологический анализ 130 природных штаммов *Sinorhizobium spp.* позволил идентифицировать более 10-ти систем антифаговой защиты, из которых системы, система адаптивного иммунитета, врожденного иммунитета, химической защиты и сигнальная система присутствовали во всех изученных штаммах. Гены, кодирующие элементы защитных систем были локализованы на хромосомах и мегаплазмидах, необходимых для установления симбиотического взаимодействия с растениями. Установлено, что в одном геноме могло встречаться до трех разных систем рестрикции-модификации, при этом анализ соответствующих аминокислотных последовательностей показал, что идентичность их составляла не более 35%.

Установлено, что анализ распределения структурных типов элементов системы врожденного иммунитета бактериальной клетки в обеих изученных популяциях штаммов *Sinorhizobium spp* из ПАГ и САГ показал, что они достоверно не различались, однако популяция САГ была более разнообразной, чем популяция ПАГ ($H(\text{САГ}) = 0,5943$ и $H(\text{ПАГ}) = 0,3251$, соответственно). Анализ структурных типов элементов сигнальной системы антифаговой защиты в популяции штаммов *Sinorhizobium spp* из ПАГ показал, что они были более разнообразными и их распределение достоверно отличалось от такового у штаммов из САГ, согласно рассчитанным индексам разнообразия по Шеннону ($H(\text{ПАГ}) = 1,767$ и $H(\text{САГ}) = 0,5894$, $\chi^2 = 52,338$, $P = 1,4479 \times 10^{-8}$, $\alpha = 8$).

Полученные данные будут использованы для разработки штаммов-инокулянтов с заданной устойчивостью к бактериофагам, которые могут быть перспективными для разработки линейки новых биопрепаратов.

Работа выполнена при поддержке НЦМУ «Агротехнологии будущего» № 075-15-2022-320 от 20.04.2022.



Разработка вычислительного конвейера для поиска и функциональной аннотации генов семейств мультидоменных белков в геномах растений

М.Е. Бочарникова¹, Д.А. Афонников¹

¹ Курчатowskiй геномный центр ИЦиГ СО РАН, Новосибирск
maribocharn@gmail.com

Современные технологии секвенирования привели к огромному потоку данных о последовательностях генома растений. Для определения функций белка эти данные требуют высокопроизводительной компьютерной аннотации. Мы предлагаем вычислительный конвейер Orthodom, который предназначен для поиска ортологичных белков с учетом их доменного состава. Конвейер реализован на основе контейнерной системы Snakemake. В качестве входных данных конвейер принимает протеомы организмов, у которых пользователь хочет найти белки, наборы референсных белков, для которых известны функции и домены, а также профили НММ для доменов этих белков. Конвейер выводит список ортологичных последовательностей для эталонных белков, а также информацию об их доменном составе и филогенетических деревьях для идентифицированных ортологичных семейств. Мы протестировали точность системы и внедрили ее для анализа растительных белков. Конвейер использовался для идентификации ортологов в геномах злаков.

Работа финансировалась Курчатowskiм геномным центром ИЦиГ СО РАН (проект № 075-15-2019-1662).



Делеции кластеров генов, участвующих в образовании биопленок, среди внутрибольничных изолятов *Pseudomonas aeruginosa*

А.В. Введенский¹, С.В. Бондарь¹, О.А. Райдару¹, А.В. Ильякова¹, А.С. Ивкина¹, Д.Е. Федоров¹,
Д.Н. Конанов¹, Л.С. Федорова¹, Е.Н. Ильина¹

¹ Научно-исследовательский институт системной биологии и медицины Роспотребнадзора, Москва
vvedenskiia@gmail.com

Pseudomonas aeruginosa является частой причиной внутрибольничных инфекций.

Сложность в лечении инфекций, вызванных *P. aeruginosa*, связана со способностью данной бактерии образовывать биопленки, устойчивые к действию антибиотиков. Целью работы было нетических детерминант биопленкообразования мультирезистентных *P. aeruginosa* (n = 21) из лабораторной коллекции изолятов, выделенных в медицинских учреждениях Москвы.

В рамках работы выполнено полногеномное секвенирование изолятов в режиме 2 × 150 п. о. на платформе DNBSEQ-G400 (MGI), со средним покрытием 60x с последующей сборкой геномов de novo и оценкой количества копий 90-а генов, участвующих в биопленкообразовании. В трех изолятах, полученных из двух московских больниц, наблюдались крупные делеции, затрагивающие несколько генов. В одном изоляте наблюдалась полная делеция генетического кластера Psl (Polysaccharide synthesis locus), необходимого для биосинтеза полисахарида Psl, одного из компонентов матрикса биопленки. Делеции кластера генов Psl описаны для изолятов, полученных от пациентов с хроническими инфекциями легких. В двух изолятах наблюдалась делеция, затрагивающая гены *pqsA* и *pqsB*, необходимые для синтеза PQS (*Pseudomonas* quinolone signal). PQS регулирует чувство кворума, участвует в индукции выхода бактериальной ДНК в матрикс биопленки и подавляет роение бактерий.

Поиск в базе данных GenBank выявил 8 геномов с делецией *pqsA* и *pqsB*, полученных для изолятов, выделенных из патологических очагов.

По информации из GenBank, обнаруженные делеции встречаются у изолятов, выделенных в разных географических регионах, что может свидетельствовать об адаптационном значении данных изменений генома. Так нарушение синтеза PQS может способствовать образованию планктонных форм в условиях *in vivo*, тем самым облегчая распространение бактерий в патологическом очаге. Данное предположение нуждается в дополнительном экспериментальном подтверждении.

Авторы выражают особую благодарность Корнеевко Е. В. и Сперанской А. С. за помощь в секвенировании изолятов.

Исследование выполнено в рамках Госзадания № 122030900064–9.



Сравнительный анализ онкогенных свойств *Mycoplasma hominis* на модели хронической инфекции эукариотической клетки

М.А. Галямина¹, О.В. Побегуц¹, К.В. Сикамов¹, И.П. Смирнов¹, М.Е. Богомякова¹, А.Ю. Горбачев¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение

«Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю.М. Лопухина

Федерального Медико-биологического Агентства», Москва

mrogova@gmail.com

В настоящее время получено достаточное количество данных, подтверждающих связь между микоплазмами и развитием злокачественных новообразований. Редуцированный геном, очень маленький размер клетки, отсутствие клеточной стенки и высокий адаптивный потенциал позволяют этим бактериям легко прикрепляться и проникать внутрь эукариотических клеток, избегать действия иммунной системы хозяина и вызывать хроническое воспаление без очевидных клинических симптомов. Целью исследования явилось изучение онкогенных свойств *Mycoplasma hominis* (*M. hominis*) в качестве инфекционного агента двух клеточных линий — злокачественной линии рака простаты LNCaP и здоровой линии кераноцитов HaCaT. Проведен сравнительный анализ клеточного роста, морфологии и протеомов LNCaP и HaCaT до и после хронической инфекции. Показано, что микоплазма не влияет на рост и морфологию клеток. Сравнительный количественный протеомный анализ показал, что микоплазма вызывает существенную перестройку протеомов как LNCaP, так и HaCaT. В обоих случаях инфицирование микоплазмой вызывает увеличение уровня белков энергетического метаболизма, биосинтеза нуклеотидов/нуклеозидов и компонентов АТФ-азы, что говорит о активации клеточного роста. В клетках HaCaT растет уровень белков, связанных с ответом на инфекцию, с активацией адгезии, а также белков-онкогенов, играющих важную роль в стимулировании роста и прогрессирования опухоли (протеинкиназы SRC, ARAF, аннексины ANXA3, тканевый фактор TF, опухолевый белок TCTP, нуклеопротеин TPR). При этом падает уровень белков, участвующих в активации апоптоза и протеосомной деградации белков. При микоплазменной инфекции Lncap растет уровень ферментов, участвующих в метаболизме липидов (биосинтез жирных кислот, фосфолипидов, сфинголипидов и холестерина), уровень рибосомальных белков, а также белков, участвующих в биогенезе рибосом и рРНК процессинге. Микоплазма способствует активации сигнальных регуляторных путей, связанных с дифференцировкой, клеточным ростом, адгезией и подвижностью. При этом снижается уровень белков, связанных с негативным регулированием апоптоза, протеосомной деградации белков и антибактериальной защиты. Финансирование.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-00189, <https://rscf.ru/project/23-24-00189>.



In silico выявление перспективных для изучения R-генов среди примитивных культурных видов картофеля

А.А. Гурина¹

¹ ФГБНУ ФИЦ «Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» (ВИР)

a.gurina@vir.nw.ru

Устойчивость сельскохозяйственных культур к заболеваниям является основой стабильного производства урожая и требует поиска и интрогрессии новых R-генов. Секция *Petota* рода *Solanum* L., к которой относятся картофель и близкородственные ему виды, включает большое разнообразие форм, среди которых могут быть обнаружены источники генов устойчивости. Поиск генов-кандидатов у представителей примитивных культурных видов (ПКВ) картофеля, на основе сходства с последовательностями известных генов устойчивости, является актуальным направлением в частной генетике картофеля. Выявленные гены могут быть использованы при создании исходного материала для селекции новых сортов, поскольку ПКВ картофеля относятся к первичному генофонду, представители которого легко скрещиваются с *S. tuberosum*, и не имеют отрицательных признаков, свойственных диким родичам картофеля.

Проведён *in silico* анализ открытых данных секвенирования ПКВ картофеля из проектов PRJNA394943 и PRJCA006011 (Li et al., 2018, Tang et al., 2022) на присутствие 14 R-генов, обеспечивающих устойчивость картофеля к фитофторозу (*Rpi-R1*, *Rpi-R2-like*, *Rpi-R3a*, *Rpi-R3b*, *Rpi-R8*, *Rpi-amr3*, *Rpi-ber1*, *Rpi-blb2*, *Rpi-sto1* и *Rpi-vnt1*) бледной картофельной нематоде (*Gpa2*), вирусу X (*Rx1*) и вертициллёзному увяданию (*Ve1* и *Ve2*). Найдены гомологи кодирующих последовательностей всех исследованных R-генов с разным количеством паралофов. Большинство генов устойчивости отличаются высокой копийностью и представлены в геноме в количестве 1–40 копий, большинство (58,20%) из которых потенциально кодируют белки (не содержат преждевременных стоп-кодонов).

Сравнение количества и частот замен в разных доменах позволило выявить у ПКВ картофеля гены с низким уровнем полиморфизма, у которых в отдельных копиях *Ve1*, *Rpi-ber1*, *Rpi-R8*, *Rpi-vnt1* и *Rx1* предположительно снижено действие отбора. Это предполагает перспективность изучения полиморфизма гомологов этих генов и его ассоциации с устойчивостью ПКВ картофеля.

1. Li Y. et al. Genomic Analyses Yield Markers for Identifying Agronomically Important Genes in Potato // Molecular Plant/ 2018 — Vol. 11. — Issue 3. — P. 473–484.
2. Tang D. et al. Genome evolution and diversity of wild and cultivated potatoes // Nature. — 2022. — Vol. 606. — Issue 7914. — P. 535–541.



Биоинформатический анализ генов и белков с эндонуклеазной активностью *Xanthomonas campestris*

М.П. Данилова¹, К.Ю. Панькина¹, В.А. Трофимов¹

¹ Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва, г. Саранск
cielmm@mail.ru

Введение: Бактерии рода *Xanthomonas* паразитируют на растениях, для них характерны богатый видовой состав и обилие различных штаммов с генетическими особенностями. Наибольший интерес представляет изучение ферментов с эндонуклеазной активностью, которые вовлекаются в процессы репарации, являясь ключевым звеном «бактериального иммунитета». Представители этого рода также являются продуцентами специфических TAL-белков, которые, будучи связаны с эндонуклеазным доменом, обеспечивают таргетное связывание с нуклеотидной последовательностью.

Цель исследования: приоритет биоинформатического исследования был отдан анализу генома референсного штамма бактерии *Xanthomonas campestris* (MAFF106181) с целью поиска белков с эндонуклеазной активностью.

Материалы и методы: биоинформатический анализ был проведен с помощью программ UGENE, BLAST и базы данных PubMed (NCBI).

Результаты: в результате проведенного исследования были обнаружены гены, кодирующие HNH-эндонуклеазы; неспецифические ДНК/РНК — эндонуклеазы; эндонуклеазы репарации несоответствия ДНК семейства MutL; эндонуклеазы, ассоциированные с системой CRISPR; субъединицы эндонуклеаз рестрикции и сами рестрикторные эндонуклеазы, а также эндонуклеаза перекрестного перехода. *Xanthomonas campestris* синтезирует несколько эндонуклеаз рестрикции — гидролаз, способных катализировать расщепление фосфодиэфирных связей чужеродной ДНК. Были рассмотрены два генетических участка, кодирующих родственные эндонуклеазы рестрикции. Они присутствуют и в *E. coli*, формируя Mrr-систему рестрикции. Также нами изучалась возможность замены эндонуклеазного домена в системе TALEN для более эффективной её работы.

Выявлены 22 белка, которые прямо или косвенно связаны с эндонуклеазной активностью (включая субъединицы рестриктаз и эндонуклеазы с мультикомплексным действием). Расщепляющий домен в системе TALEN в общих случаях представлен рестриктазой FokI. Основопологающим аспектом для применения FokI в системе TALEN является то, что разрезание ДНК опосредуется через неспецифический домен расщепления.

Выводы: гипотетически любая рестриктаза, которая обладает аналогичными FokI свойствами, может быть использована для данной системы геномного редактирования. Этот тезис частично определяет цель и актуальность данной работы.



Поиск мишеней и ко-регуляторов транскрипционного фактора IPD3/CYCLOPS гороха посевного *Pisum sativum* L.

А. В. Долгих¹, А. М. Дымо¹, Е. С. Канцурова¹, Е. А. Долгих¹

¹ ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург
sqshadol@gmail.com

Бобово-ризобиальный симбиоз является уникальным примером взаимодействия растений и микроорганизмов, играющим важную практическую роль в поддержании плодородия сельскохозяйственных почв. Установление симбиоза приводит к формированию азотфиксирующего клубенька на корнях растения. Исследователи активно изучают регуляторы инициации и развития данного процесса, что позволяет находить потенциальные мишени влияния на эффективность формирования симбиоза и азотфиксацию. Однако ранние события, включающие узнавание партнеров, подавление иммунных реакций растения-хозяина, а также формирование и дифференцировку симбиотического клубенька во многом остаются неясны.

Известно, что при восприятии сигнальных молекул ризобий специализированными рецепторами в клетках корня бобового растения активируется сигнальный каскад, приводящий к возникновению колебаний уровня кальция в ядре, что приводит к активации кальций-кальмодулин зависимой киназы (ССаМК). Данный фермент участвует в фосфорилировании и последующей активации важнейшего регулятора развития симбиотического клубенька — транскрипционного фактора IPD3/CYCLOPS. У мутантов бобовых по данному гену нарушаются процессы закладки и развития клубеньков. Однако лишь малая часть генов, которые активируются данным транскрипционным фактором, известны на настоящий момент. Среди белковых ко-факторов IPD3 выявлены важнейшие регуляторы бобово-ризобиального симбиоза, например, регулятор гиббереллинового метаболизма белок DELLA1. Тем не менее полный спектр белков, активирующихся под влиянием IPD3/CYCLOPS, на данный момент неизвестен.

Для поиска возможных мишеней IPD3/CYCLOPS у гороха посевного (*Pisum sativum* L.) нами был проведена иммунопреципитация хроматина, связывающегося с белком IPD3/CYCLOPS, совмещенная с высокопроизводительным секвенированием (ChIP-Seq). С помощью метода скрининга библиотеки кДНК в дрожжевой дигибридной системе, совмещенной с высокопроизводительным секвенированием (Y2H-in-frame-seq), нам удалось провести широкомасштабный поиск возможных ко-факторов IPD3. В результате, среди возможных мишеней и ко-регуляторов IPD3, были найдены регуляторы защитного ответа растения, ферменты углеводного метаболизма и ряд других регуляторных генов, которые представляют широкий интерес для дальнейшего изучения.



Разработка молекулярных маркеров на основе результатов GWAS для селекции твердой пшеницы

А.С. Ермолаев¹, В.А. Коробкова¹, Л.А. Беспалова², А.А. Мудрова², А.С. Яновский², А.Д. Воропаева², Г.И. Карлов¹, М.Г. Дивашук¹

¹ ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва

² ФГБНУ «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко», Краснодар
ermol-2012@yandex.ru

Пшеница является одной из важнейших сельскохозяйственных злаковых культур. На сегодня в мире выращиваются два преобладающих вида пшеницы: мягкая пшеница (*Triticum aestivum*), которая составляет 90% от всей производимой пшеницы, и твердая пшеница (*Triticum durum*), которая составляет 8–9% от всей производимой пшеницы (Sulek *et al.*, 2023). После успеха «Зеленой революции», приведшей к созданию полукарликовых, нечувствительных к длине светового дня сортов, разработка новых разновидностей ведется за счет внесения дополнительных характеристик.

Полногеномный анализ ассоциаций (GWAS, Genome-wide association study) позволяет найти ассоциации между вариацией генотипа на множестве позиций в геноме и фенотипом. Однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) являются наиболее часто используемым типом мутаций для GWAS. Статистически ассоциированные SNP могут быть использованы как маркеры напрямую, если они являются эффекторными, или быть использованы для идентификации гена-кандидата поблизости от статистически ассоциированного SNP. Последующее секвенирование найденных генов-кандидатов в контрастных по фенотипу сортах может позволить найти полиморфные сайты для разработки маркеров. Идентифицированные мутации могут быть использованы как маркеры в селекционном процессе.

Нами был проведен GWAS на коллекции из 190 сортов твердой пшеницы. Растения были генотипированы с использованием SNP-микрочипа 35K Axiom Arrays. После фильтрации SNP по качеству генотипирования, удаления вариантов с частотой минорного аллеля < 5% и количеству пропущенных SNPs, для анализа осталось 6212 вариантов. GWAS был проведен для 7 технологических параметров зерна: содержание белка в зерне, влажность зерна, индекс клейковины, индекс цвета зерна, содержание крахмала в зерне, натурный вес зерна и SDS-седиментации. В результате анализа были обнаружены SNP, ассоциированные с изменением содержания белка в зерне, индекса цвета и натурального веса. Анализ генов, расположенных рядом со статистически значимыми SNP, на основании литературных данных и GO (Gene Ontology) аннотации позволил идентифицировать гены-кандидаты для секвенирования и поиска полиморфизмов у контрастных по фенотипу образцов. Рядом со статистически ассоциированным вариантом на хромосоме 4B, ассоциированным с количеством белка в зерне, был идентифицирован ген-кандидат Serine acetyltransferase 2 (*sat2*), который, согласно GO-аннотации, вовлечен в синтез цистеина. Ген *sat2* был секвенирован у контрастных по фенотипу сортов твердой пшеницы, что позволило найти SNP для разработки KASP-маркера. Разработанный маркер показал хорошую аллельную дискриминацию и был протестирован на коллекции яровых и озимых сортов твердой пшеницы. Статистический анализ показал стабильную ассоциацию с количеством белка в зерне на 4-летних фенотипических данных (2020–2023 года). Интересно, что найденная ассоциация была значимой только для яровых сортов. Для озимых сортов маркер не показывал ожидаемой статистически значимой разницы между образцами с разными аллелями. Разработанный маркер может быть использован для ускорения селекционного процесса яровой твердой пшеницы и создания форм с увеличенным количеством белка.

[1] Sulek A., Cacak-Pietrzak G., Rózewicz M., Nieróbca A., Grabiński J., Studnicki M., Sujka K., Dziki D. Effect of Production Technology Intensity on the Grain Yield, Protein Content and Amino Acid Profile in Common and Durum Wheat Grain. *Plants*. 2023. 12(2):364.



Метаанализ профилей дифференциальной экспрессии генов: к вопросу о выборе данных

А.В. Тяпкин¹, В.В. Лавреха^{1,2}, Н.А. Омелянчук¹, Е.В. Землянская^{1,2}

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск
ezemlyanskaya@bionet.nsc.ru

Стремительный рост количества полногеномных экспериментов по изучению изменения экспрессии генов в различных условиях обусловил широкое распространение интегрированного анализа (метаанализа) транскриптомных данных. Интеграция данных может повысить точность статистических оценок, а также позволяет тестировать гипотезы, которые невозможно было проверить в отдельных исследованиях. Для повышения информативности такой интеграции необходимо оптимизировать подбор экспериментов. Мы предлагаем набор количественных показателей для всестороннего сравнительного описания транскриптомных данных, которые легко могут быть визуализированы и интерпретированы. К ним относятся количество дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ), доля ДЭГ, специфических для каждого набора данных, мера попарного сходства экспериментов по составу ДЭГ, статистическая оценка однородности профилей ДЭГ. Для автоматического вычисления и визуализации этих показателей мы разработали программу InterTransViewer. На примере применения программы для сравнительного описания транскрипционных ответов на обработку фитогормонами у модельного растения *Arabidopsis thaliana* L. мы продемонстрировали, что комплексное рассмотрение предлагаемых характеристик позволяет позиционировать эксперименты в контексте друг друга, оценивать тенденцию к их интеграции/сегрегации, генерировать гипотезы о влиянии нецелевых факторов на исследуемый транскрипционный ответ, выделять потенциально однородные группы экспериментов, статистически оценивать однородность этих групп профилей. Это помогает принять решение о целесообразности использования данных для метаанализа. В целом InterTransViewer позволяет эффективно формировать выборки экспериментов в зависимости от задачи и методов метаанализа. Работа поддержана грантом РНФ № 20-14-00140.



Pike: инструмент для анализа «шумных» метагеномных прочтений

**Д.В. Кривонос¹, Д.Е. Федоров¹, Д.Н. Конанов¹, А.В. Введенский¹, Е.В. Корнеенко¹,
А.С. Сперанская¹, Е.Н. Ильина¹**

¹ Научно-исследовательский институт системной биологии и медицины

danil01060106@gmail.com

Информацию о таксономическом составе микробных композиций часто получают посредством анализа данных секвенирования ампликонов генов домашнего хозяйства. Стандартом современной метагеномики бактериальных сообществ является секвенирование ампликонов переменных регионов гена 16S рРНК. Наиболее популярной платформой в метагеномике по сей день является Illumina, парные прочтения которой позволяют полностью закрыть участок V3-V4 гена 16S рРНК.

Популярность Illumina обуславливается высоким качеством получаемых данных и удобством их биоинформатической обработки. Наиболее популярным программным решением в области метагеномики на Illumina является пакет dada2, позволяющий удобно в автоматизированном режиме собирать консенсусные варианты последовательностей ампликонов (ASV). Алгоритм, лежащий в основе dada2, способен обрабатывать прочтения только высокого качества, что делает невозможным перенос схемы анализа данных Illumina на платформы с более низким качеством получаемых данных.

В то же время все более активно набирает популярность платформа Oxford Nanopore, которая позволяет получать более длинные последовательности прочтений за относительно короткое время пробоподготовки. С помощью нанопорового секвенирования становится возможным полностью покрыть область V1-V9 гена 16S рРНК, получив надежное таксономическое разрешение. Несмотря на все положительные стороны, нанопоровое секвенирование характеризуется большим количеством «шума» (ошибок), для которых нельзя применять стандартную схему обработки результатов Illumina.

Наиболее доступным методом анализа данных секвенирования ампликонов является пакет wf-metagenomics из epi2me-labs. Wf-metagenomics включает два встроенных инструмента: kraken2 и minimap2. Алгоритмы, заложенные в эти инструменты, не учитывают ошибки, возникающие в результате секвенирования, что может приводить к росту ложно положительного ответа. Вышеперечисленные инструменты служат лишь для таксономической аннотации микробных композиций и не позволяют получать собранные последовательности вариантов ампликонов.

Исходя из потребности в инструменте, позволяющим анализировать метагеномные данные, полученные на платформе Oxford Nanopore, мы разработали собственный алгоритм, который имплементировали в виде инструмента командной строки Pike. Pike основан на последовательной кластеризации прочтений с последующим достижением консенсусных вариантов ампликонов. В настоящей работе нами была проведена валидация разработанного алгоритма с помощью эквимолярных бактериальных и грибных композиций ампликонов различного размера.



Оценка направления отбора гена *rbcL* у некоторых представителей подсемейства Мятликовые (*Pooideae*)

А.В. Кусакин¹, А.В. Родионов², И.Г. Лоскутов¹

¹ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург

² Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург
axkusakin@gmail.com

Многие представители подсемейства *Pooideae* являются культурными растениями, широко используемыми в сельском хозяйстве. В процессе одомашнивания и расселения по континентам, злаки претерпели многие генетические изменения в ходе адаптации к новым условиям обитания. Для изучения таких изменений часто применяют геномы пластид, так как они очень хорошо изучены и поэтому полезны для задач филогенетики и эволюционной биологии [1].

В данной работе мы провели оценку направления отбора ключевого для фотосинтеза гена *rbcL*, который располагается в пластидном геноме и кодирует большую субъединицу фермента RuBisCO. Изучение направления отбора имеет решающее значение для понимания адаптивной эволюции этого гена. Кроме того, данное исследование закладывает основу для дальнейшего изучения сложной эволюционной динамики различных генов у подсемейства *Pooideae*.

Геномы пластид для данной работы были получены в открытой базе данных GeneBank NCBI. Всего было взято 17 видов, из них: 4 рода *Triticum* (*T. aestivum* L., *T. monococcum* L., *T. turgidum* L. и *T. urartu* Tumanian ex Gandilyan); 3 рода *Hordeum* (*H. jubatum* L., *H. vulgare* L. и *H. brevisubulatum* Trin.); 5 рода *Avena* (*A. abyssinica* Hochst., *A. barbata* Pott., *A. sativa* L., *A. sterilis* L. и *A. strigosa* Schreb.); 3 рода *Secale* (*S. cereale* L., *S. strictum* C. Presl и *S. sylvestre* Host); также для укоренения дерева были использованы 2 представителя сестринской клады PACMAD: *Zea mays* L. и *Panicum miliaceum* L. Выравнивание последовательностей гена *rbcL* было сделано в программе MACSE 2. Построение дендрограммы было выполнено в IQ-TREE 2. EasyCodeML был использован для оценки направления отбора (dN/dS, ω). Были протестированы 3 модели эволюции: 1) Site model — учитывает разное направление отбора в разных сайтах; 2) Branch model — учитывает разное направление отбора в разных ветвях и 3) Branch-Site model — объединение двух предыдущих подходов. Для 2-й и 3-й моделей были выделены следующие ветви: 1) клада PACMAD, 2) триба Triticeae и 3) род *Avena*.

В ходе данной работы положительный отбор ($\omega > 1$) удалось обнаружить только в site model.

Положительный отбор был установлен для таких сайтов, как 14 Q, 94 D, 95 N и 470 E. Аминокислоты в позициях 94, 95 и 470 не участвуют в формировании активного сайта и не являются сайтами связывания с лигандами. В то время как для 14-й позиции, для некоторых видов злаков, была описана посттрансляционная модификация лизина (K), проявляющаяся в триметилировании [2]. Визуализация выравнивания этого участка показала, что у большинства изучаемых видов (12 из 17) в данной позиции находится аминокислота глутамин (Q). Напротив, у *A. aestivum* L., *T. turgidum* L., *H. brevisubulatum* Trin., *Zea mays* L. и *Panicum miliaceum* L. в данной позиции глутамин заменен на лизин.

Метилирование лизина на N-конце белка очень распространенная модификация у эукариот. Показано, что данная модификация усиливает белок-белковые взаимодействия [3]. Принимая во внимание, что фермент RuBisCO состоит из 2 субъединиц, замена лизина на глутамин могла изменить характер и их силу связывания, что может влиять на активность фермента. Но для проверки этой гипотезы необходимы дальнейшие исследования.

[1] Wang, Jie, et al. Journal of Systematics and Evolution 61.2 (2023): 328–344.

[2] Houtz, Robert L., et al. Proceedings of the National Academy of Sciences 86.6 (1989): 1855–1859.

[3] Zhang, Xi, et al. Acta Biochim Biophys Sin 44.1 (2012): 14–27.



Объемная адаптация *Mycoplasma gallisepticum* к осмотическому стрессу

А.А. Лазарева¹, Д.С. Матюшкина¹, С.В. Сизова^{1, 2}, В.М. Говорун¹

¹ ФБУН НИИ Системной Биологии и Медицины Роспотребнадзора, Москва

² ИБХ им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Москва

a.lazareva@sysbiomed.ru

Клеточный размер — один из малоизменяемых параметров бактериальной клетки, так многие из них в ходе эволюции обзавелись клеточной стенкой, обеспечивающей строго фиксированный объем. А механизмы деления усовершенствовались настолько, чтобы дисперсия размеров дочерних клеток была минимальна [1]. Но вопрос, существуют ли в клетке механизмы поддержания фиксированного объема, остается открытым. Например, редуцированная бактерия *Mycoplasma gallisepticum* S6 совсем не имеет клеточной стенки и выживает в радикально различающихся осмотических условиях: как внутри эукариотической клетки, так и свободно в окружающей среде. Изучение динамики размеров *M. gallisepticum* S6 в различных осмотических условиях и стало целью данной работы.

В первую очередь были определены границы выживаемости микоплазменных клеток при изменении концентрации в меньшую и большую сторону относительно 85 мМ NaCl (нормальные условия для культивации). Обнаружилось, что в диапазоне от 30 мМ до 160 мМ NaCl скорость роста клеток заметно не изменяется, а при уменьшении до 0 мМ и увеличении до 250 мМ скорость роста клеток замедляется в два раза. При еще более значительных увеличениях концентрации хлорида натрия в среде до 500 мМ клетки перестали делиться, однако спустя 48 часов инкубации в таких условиях количество колоний образующих единиц не изменилось, а значит жизнеспособность клеток сохранилась. Затем, с помощью метода динамического светорассеяния было оценено распределение размеров микоплазменных клеток на разных фазах роста при культивации в различных осмотических условиях и обнаружено, что распределение смещается в сторону меньших размеров при гипосмосе и в сторону больших размеров при гиперосмосе. Что не состыкуется с механизмами подобного ответа в липосомах [2] и делает актуальным более детальное исследование механизма осмоадаптации.

- [1] Cayley S. [et al.] Large changes in cytoplasmic biopolymer concentration with osmolality indicate that macromolecular crowding may regulate protein-DNA interactions and growth rate in osmotically stressed *Escherichia coli* K-12 // *J Mol Recognit.* 2004 Sep–Oct;17(5):488–96. DOI: 10.1002/jmr.695.
- [2] Foo J. J. [et al.] Contact Deformation of Liposome in the Presence of Osmosis // *Annals of Biomedical Engineering.* 2003. V31, 1279–1286. DOI: 10.1114/1.1616934.



Изучение пептидного иммунного сигналинга растений на примере мха

И.С. Ляпина¹, Д.Р. Ганаева¹, Д.Ю. Рязанцев¹, Е.А. Рогожин¹, И.А. Фесенко²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (ИБХ РАН), Москва
amadeynemez@gmail.com

Пептиды выполняют множество функций у растений, отдельные их семейства были найдены почти у всех покрытосеменных, однако более масштабный анализ их представленности все еще затруднен [1, 2]. Более того, поиск принципиально новых регуляторных пептидов представляет собой сложную задачу, поскольку большинство разрабатываемых соответствующих инструментов основаны на гомологии к последовательностям уже известных пептидных семейств [3].

Мы разработали алгоритм поиска пептидов, участвующих в регуляции иммунного ответа, у разных таксонов растений, используя транскриптомы сельскохозяйственных растений (*Zea mays*, *Brassica napus*, *Solanum tuberosum*) и модельного растения (*Physcomitrium patens*), полученные после заражения фитопатогенами. Наш алгоритм включает реаннотацию транскриптов (в том числе с использованием базы данных длинных некодирующих РНК (длнкРНК)), предсказание открытых рамок считывания, способных кодировать короткие белковые последовательности, предсказание сигнальной последовательности, трансмембранных и известных белковых доменов, а также поиск консервативных мотивов, связанных с активностями известных семейств пептидов. Кроме того, были выполнены предсказание третичных структур и дальнейший структурный поиск с использованием баз данных белковых последовательностей.

В результате такого анализа были обнаружены пептиды из известных семейств, для которых ранее не было подтверждено участие в иммунном ответе (MEG, EPFL, CEP, TAX и др.), а также были найдены совершенно новые кандидаты, которые могут играть роль в ответе растений на биотический стресс. Были проанализированы паттерны изменения транскрипции пептидов из этих групп для разных растений. Часть предсказанных транскриптов была аннотирована как длнкРНК, что в очередной раз показывает важность нашего подхода для нахождения потенциальных функциональных последовательностей. Предсказание третичных структур позволило получить дополнительную информацию о новых кандидатах, предположить их функциональность, а также провести сравнительный анализ структур пептидных семейств, обнаруженных в разных таксонах растений. Обработка растений мха *Physcomitrium patens* синтетическим пептидом EPFL показала, что данное семейство может играть роль в защитном ответе у бриофитов. Подход, связанный с предобработкой растений синтетическими сигнальными пептидами, может помочь повысить устойчивость растений к фитопатогенам, что может служить достойной альтернативой существующим средствам защиты растений.

- [1] Boschiero, C., Dai, X., Lundquist, P.K., Roy, S., Bang, T. C. de, Zhang, S., Zhuang, Z., Torres-Jerez, I., Udvardi, M. K., Scheible, W.-R., et al., MtSSPdb: The Medicago truncatula Small Secreted Peptide Database. *Plant Physiology* 2020, 183, 399–413.
- [2] Lyapina, I., Filippova, A., Kovalchuk, S., Ziganshin, R., Mamaeva, A., Lazarev, V., Latsis, I., Mikhalchik, E., Panasenko, O., Ivanov, O., et al., Possible role of small secreted peptides (SSPs) in immune signaling in bryophytes. *Plant Mol Biol* 2021, 106, 123–143.
- [3] Liu, Z., Hou, S., Rodrigues, O., Wang, P., Luo, D., Munemasa, S., Lei, J., Liu, J., Ortiz-Morea, F. A., Wang, X., et al., Phytocytokine signalling reopens stomata in plant immunity and water loss. *Nature* 2022, 605, 332–339.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (Грант 23-74-10048 «Функции цистеин-богатых пептидов в иммунном ответе растений»).



Вариация клеточного объема — механизм ответа бактерий на стресс

Д.С. Матюшкина¹, А.А. Лазарева¹, Е.А. Васильева¹, П.В. Башкиров¹, Т.С. Сапега¹, О.Л. Макарикова¹,
И.О. Бутенко¹, В.М. Говорун¹

¹ ФБУН НИИ СБМ Роспотребнадзора, РФ, Москва, Научный проезд, 18, 117246

d.matyushkina@sysbiomed.ru

Регуляция ответа на стресс представляет собой очень сложную и многопараметрическую систему даже в таких просто устроенных и редуцированных природой бактериях, как микоплазмы. Они относятся к автономно реплицирующимся бактериям с минимальным геном. Их принято рассматривать в качестве модели минимальной клетки. Но, несмотря на длительную историю изучения данных бактерий, остается много пробелов в понимании механизмов регуляции и адаптации микоплазм к стрессовым воздействиям. В связи с отсутствием клеточной стенки, микоплазмы хорошо переносят осмотический стресс, по нашим данным они способны выживать в среде с содержанием 500мМ NaCl.

В ходе нашего исследования на модели *Mycoplasma gallisepticum* мы постарались разобраться, какие изменения претерпевает бактериальная клетка на морфологическом и фенотипическом уровне при осмотическом шоке, а кроме того, какие клеточные механизмы могут быть в это вовлечены. С помощью метода динамического рассеяния света (ДРС) (Brookhaven Instrument 90Plus Particle Size Analyzer) были проведены измерения размеров микоплазменных клеток в гипер- и гипосмотических условиях. Кроме того, оценка распределения размеров была исследована разработанным нами методом регистрации импульсов проводимости. Морфология и клеточный объем также были оценены с помощью голографической микроскопии (Tomocube HT-X1). Во всех случаях измерений мы наблюдали вариативность в размерах клеток при осмотическом стрессе. Изменения на уровне протеома были исследованы с помощью масс-спектрометрического подхода (OrbiTrap Exploris 480, Thermo), основные изменения наблюдались в представленности поверхностных VlhA антигенов, что может быть напрямую связано с изменением размеров клеток в условия гипер- и гипосмоса. В условиях измененного осмоса мы зарегистрировали ограничение накопления бромистого этидия клетками за счет ограничения его входа. Скорее всего, происходит модификация внутренней среды микоплазм и, как следствие, физико-химическое ограничение накопления. Таким образом, можно предположить, что за счет вариации клеточного объема микоплазма способна реагировать и адаптироваться к стрессовым воздействиям.

Данная работа выполнена при поддержке службы Роспотребнадзора ГЗ № 1022040800170-3-1.6.23 «Создание искусственных клеточных систем».



Создание линий растений *A. thaliana* с повышенной копийностью мобильных элементов как ресурса для функциональной геномики и мобиломики

П.Ю. Меркулов^{1, 2}, М.А. Серганова^{1, 2}, Г.А. Петров², И.В. Киров^{1, 2}

¹ Московский физико-технический институт, Долгопрудный

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва

paulmerkulov97@gmail.com

Индукцированный мутагенез растений является важным инструментом для фундаментальных исследований, а также для создания новых генетических вариантов с целью увеличения генетического разнообразия [1]. Одним из подходов индуцированного мутагенеза, зарекомендовавших своё значение для функциональной геномики, является инсерционный мутагенез, который может быть осуществлён при помощи Т-ДНК и мобильных элементов (МЭ). В геномах растений наиболее многочисленными МЭ являются LTR-ретротранспозоны, для некоторых из которых установлена преференция к интеграции в определённые участки генома [2, 3]. Кроме того, у отдельных LTR-ретротранспозонов обнаружена стресс-индуцибельность, а также цис-регуляторные мотивы, что делает возможным не только использование инсерций для инактивации генов, но и изменения характера их экспрессии [3]. Однако строгий эпигенетический контроль, регулирующий экспрессию МЭ у растений, лимитирует возникновение новых наследуемых инсерций в потомстве. Тем не менее было показано, что релаксация сайленсинга МЭ, например, при помощи ингибиторов ключевых компонентов эпигенетического контроля, может позволить получить линии растений с новыми наследуемыми инсерциями [4].

При помощи комбинации ингибиторов компонентов эпигенетического контроля и условий теплового стресса нами была проведена активация мобильных элементов семейства *ONSEN* у растений дико-го типа *A. thaliana* (популяция M0). При помощи методов Transposon Display и qPCR среди растений популяции M1 были идентифицированы генотипы с повышенной копийностью элементов *ONSEN*. В дальнейшем ДНК растений M2, предположительно содержащих наибольшее количество дополнительных инсерций, будет использована для нанопорового секвенирования с целью установления местоположения новых копий элементов *ONSEN*, а также определения локального метилирования.

В дальнейшем полученные и охарактеризованные генотипы *A. thaliana*, содержащие дополнительные инсерции нативных мобильных элементов, могут послужить объектом для проведения работ в области функциональной геномики и мобиломики растений.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-74-10055.

- [1] Chaudhary J., Deshmukh R., Sonah H. Mutagenesis Approaches and Their Role in Crop Improvement // Plants (Basel). — 2019. — Т. 8, № 11.
- [2] Jedlicka P., Lexa M., Vanat I., Hobza R., Kejnovsky E. Nested plant LTR retrotransposons target specific regions of other elements, while all LTR retrotransposons often target palindromes and nucleosome-occupied regions: in silico study // Mobile DNA. — 2019. — Т. 10, № 1. — С. 50.
- [3] Galindo-González L., Mhiri C., Deyholos M. K., Grandbastien M.-A. LTR-retrotransposons in plants: Engines of evolution // Gene. - 2017. - Т. 626. - С. 14–25.
- [4] Thieme M., Lanciano S., Balzergue S., Daccord N., Mirouze M., Bucher E. Inhibition of RNA polymerase II allows controlled mobilisation of retrotransposons for plant breeding // Genome Biol. — 2017. — Т. 18, № 1. — С. 134.



Путь Эшвелла как ключевое звено в формировании вирулентного фенотипа адгезивно-инвазивной *Escherichia coli*

О.В. Побегуц¹, М.А. Галямина¹, А.С. Авшалумов¹, Д.Р. Уразаева¹, М.В. Михайлычева¹,
С.И. Ковальчук¹, И.П. Смирнов¹, Д.А. Широков¹, В.В. Бабенко¹, А.Ю. Горбачев¹

¹ Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение Федеральный Научно-клинический центр физико-химической медицины Федерального медико-биологического Агентства России

nikitishena@mail.ru

E. coli, обладающие адгезивно-инвазивным фенотипом (АИЕС), были выделены от пациентов с болезнью Крона (БК). Они отличались способностью прикрепляться и проникать внутрь эукариотических клеток, выживать и размножаться в макрофагах, их активность сопровождалась высвобождением провоспалительных цитокинов. Предполагают, что АИЕС участвуют в поддержании воспалительного процесса при БК. Обнаружено, что вирулентные свойства АИЕС зависят от источника углерода: пассирование на минимальной среде с пропионатом натрия (ПА) индуцирует формирование гипервирулентного фенотипа (аАИЕС), тогда как пассирование с глюкозой — приводит к резкому снижению вирулентных свойств (нАИЕС). Причем подобный феномен обратим и не наблюдался для лабораторного штамма K12 Mg1655. Целью исследования явилось изучение механизма переключения АИЕС на вирулентный фенотип. Сравнительный анализ геномов и метаболического потенциала показал, что ПА не вызывает никаких перестроек в геноме, но, в отличие от K12, АИЕС, имеет гены, кодирующие дополнительные ферменты метаболизма ПА (*pdu*-оперон), и ферменты, участвующие в пути биосинтеза UDP-*N*-ацетил-*L*-фукозамина — предшественника *L*-фукозамина в составе О-антигена липополисахаридов (ЛПС). Отличия в составе ЛПС, полученного с помощью фенольной экстракции, также были обнаружены при анализе аАИЕС и нАИЕС. Сравнительный количественный анализ АИЕС и K12 Mg1655, выращенных на ПА и глюкозе на уровне транскриптома и протеома, показал, что в отличие от K12 для АИЕС характерна активация метаболизма галактурановой (*Gal*) и глюкуроновой (*Glu*) кислот, которые АИЕС использует в качестве источника углерода. Однако известно, что *Gal* участвует в модификации полисахаридного ядра ЛПС, а также играет роль сигнальной молекулы для колонизации и активации секреции III типа у энтерогеморрагической *E. coli* с помощью регулятора *EhuR*. Мы предположили, что *EhuR* может играть роль в переключении вирулентного фенотипа у АИЕС. Сравнительный анализ вирулентных свойств показал, что АИЕС с делецией в гене *EhuR* (Δ *EhuR*) теряет способность проникать внутрь эукариотических клеток, становится чувствительным к антимикробному пептиду мелиттину и снижает способность формировать биопленки. Сравнительный количественный протеомный анализ показал, что, в отличие от дикого типа, для Δ *EhuR* наблюдается снижение уровня ферментов, участвующих в пути биосинтеза UDP-*N*-ацетил-*L*-фукозамина. Таким образом, активация вирулентных свойств АИЕС связана с активностью *EhuR*, который регулирует биосинтез UDP-*N*-ацетил-*L*-фукозамина и модификацию ЛПС, что позволяют бактерии быстро реагировать на изменяющиеся условия.



Идентификация новой системы сборки архейных и бактериальных фимбрий

М.Г. Пятибратов¹, М.Ю. Топилина¹, А.С. Сюткин¹, А.В. Галева¹, С.Ю. Щеголев²

¹ Институт белка РАН, Пущино, Московская область

² Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов

mikhailpyatibratov@gmail.com

Мы впервые охарактеризовали новый тип поверхностных структур архей: Тат-фимбрий галофильной археи *Haloarcula hispanica*, которые построены из белковых субъединиц TafA, TafC и TafE, секретируемых с помощью твин аргининового пути транслокации (Тат-путь). Был идентифицирован кластер генов *tafA, B, C, D, E, F, G*, предположительно отвечающих за синтез Тат-фимбрий. Основываясь на молекулярном моделировании и экспериментальных данных, в качестве наиболее достоверной модели строения Тат-фимбрий нами рассматривается линейная структура, состоящая из четырех белков, взаимодействующих посредством обмена донорными цепями между соседними субъединицами: TafC локализован на дистальном конце нитей и может отвечать за их адгезивные свойства, TafE является спейсером между TafC и мажорной субъединицей TafA. TafF предположительно закодирует тафи в клеточной мембране. Белок TafB является вероятным регулятором транскрипции. Функция белка TafG, аннотируемого как «белок, содержащий DUF5305-домен», неизвестна. TafD принадлежит к суперсемейству S24, S26 LexA/сигнальных пептидаз, локализованных в цитоплазматическую мембрану, отщепляющих N-концевой сигнальный пептид секретируемых белков. Пептидаза TafD содержит четыре предсказанных трансмембранных участка и два домена, расположенных снаружи цитоплазматической мембраны. Консервативные остатки (Ser-40, His-83, Arg-84), ответственные за пептидазную активность, расположены в N-концевом домене. Функция C-концевого домена, который, согласно предсказаниям AlphaFold, структурно подобен TafA, неясна. Показано, что инактивация гена *tafD* приводит к прекращению синтеза Тат-фимбрий и накоплению в клетках непротессированного продукта основного белка нитей TafA. Поиск гомологов TafA *Haloarcula hispanica* с помощью алгоритма BLAST обнаруживает близкие гомологи только у представителей немногих родов галоархей (*Haloarcula, Haloferax, Halorubrum, Natrionalba* и *Natrinema*). Однако результаты поиска гомологов сигнальной пептидазы TafD *Haloarcula hispanica* показывают наличие близких гомологов у более широкого круга микроорганизмов, включая дополнительные роды галоархей, а также представителей гипертермофильных архей (*Thermococcus, Pyrococcus, Archaeoglobus, Palaeococcus, Geoglobus*) и грамположительных бактерий (*Bacillus, Lederbergia, Psychrobacillus, Ruminiclostridium, Sporosarcina* и др.). Анализ геномного окружения найденных гомологов TafD показал тесную связанность соответствующих генов с генами, кодирующими гомологи белка TafG и набором из 2–3 генов, кодирующих белки, структурно подобные TafA. Идентифицированные нами TafA-подобные белки, как правило, содержат паттерны, указывающие на их секрецию с помощью Тат-пути у галоархей, и Sec-пути у негалофильных микроорганизмов. Моделирование с помощью AlphaFold указывает на их потенциал собираться подобно Тат-фимбриям в нитевидные филаменты с использованием механизма обмена донорной цепью. Следует отметить структурную гомологию TafA с C-концевым доменом идентифицированных TafD-подобных пептидаз, что может указывать на их взаимодействие при сборке фимбрий. Наиболее изученной системой сборки бактериальных адгезивных пилей является т.н. система шаперон-usher. Однако сборка описываемых нами Тат-фимбрий, несмотря на их структурное подобие с адгезивными пиллями, исключает подобный механизм. Мы полагаем, что в нашем случае следует говорить о новом, ранее не охарактеризованном типе сборки. Этот тип сборки характерен для галофильных и гипертермофильных архей и ряда грамположительных бактерий и предполагает, что взаимодействие полимеризующихся белков-протомеров, секретируемых с помощью Тат- или Sec-пути, происходит уже в периплазме. Важными компонентами этой системы являются двудоменная сигнальная пептидаза и белок, содержащий домен DUF5305: детальное выяснение их роли является целью будущих исследований.



Визуализация митохондриальных геномов с различным порядком генов на примере видов отряда *Amphipoda* (*Crustacea*)

Е. В. Романова¹, Ю. С. Букин¹, Д. Ю. Щербаков^{1, 2}

¹ Лимнологический Институт, г. Иркутск

² Новосибирский Государственный Университет, г. Новосибирск

elena_romanova@lin.irk.ru

Амфиподы (*Crustacea*) — многочисленная группа беспозвоночных озера Байкал, насчитывающая более 350 видов. Все разнообразие байкальских видов возникло в результате адаптивной радиации как минимум двух предковых линий, вселившихся в озеро в разное время (обозначаются как линия I и II). Большое разнообразие размеров, форм и занимаемых экологических ниш, а также эндемичное происхождение делает байкальских амфипод удобной моделью для эволюционных исследований. Одним из интересных аспектов изучения являются последовательность и архитектура митохондриальных (мт) геномов. В ранее проведенных исследованиях была выявлена большая вариабельность порядков генов у этой группы байкальских организмов. Дальнейшее увеличение числа проаннотированных мт геномов байкальских амфипод выявило необходимость создания нового метода визуализации и количественного сравнения перестроек в порядках генов.

Нами были собраны и проаннотированы последовательности 62 видов байкальских амфипод из транскриптомных чтений базы данных SRA. Для анализа порядков генов из них были взяты 57 полных мт геномов, а также добавлены 38 мт геномов небайкальских амфипод из базы данных RefSeq. Визуализация порядков генов в мт геномах амфипод была представлена как диаграмма рассеяния точек, построенная методом многомерного шкалирования, реализованного в библиотеке Scikit-learn языка Python. В качестве количественной меры расстояний между уникальными порядками генов были приняты евклидовы дистанции. Последовательности белок-кодирующих генов мт геномов также были взяты для проведения филогенетического анализа (метод Maximum likelihood) для установления родственных отношений внутри группы байкальских видов.

Из 95 последовательностей мт геномов амфипод было выявлено 50 вариантов порядков генов. Самый представленный класс включал 27 видов с идентичным порядком генов, в который вошли 21 вид байкальских амфипод, принадлежащих главным образом к представителям семейства Eulimnogammaridae, и шесть видов рода *Gammarus* — наиболее близкородственной группы небайкальских пресноводных видов. Два следующих по представленности класса принадлежат к небайкальским видам рода *Metacrangonyx* (8 мт геномов) и рода *Caprella* (4 мт генома). Все остальные варианты порядков генов мт геномов были встречались у одного-трех видов. Таким образом, примерно третья часть исследованных видов (21 из 57) байкальских амфипод сохранили тот же порядок генов в мт геноме, что и предполагаемый *Gammarus*-подобный предок, родство с которым было ранее показано с использованием филогенетического анализа.

Пятьдесят уникальных порядков генов амфипод были визуализированы как диаграмма рассеяния точек с метками принадлежности к шести семействам байкальских амфипод, а также с метками принадлежности к байкальским и небайкальским видам. Диаграмма показала, что вариабельность порядка генов наименьшая у видов семейств Eulimnogammaridae и Pallaseidae. Наиболее разнообразный порядок генов мт генома наблюдается у видов, принадлежащих к I линии байкальских амфипод (семейства Micrurpodidae и Macrohectopodidae) — потомков более древней байкальской радиации. На диаграмме также видно, что вариабельность порядка генов байкальских видов выше, чем у небайкальских видов данного набора. Можно предположить, что эндемичная эволюция амфипод в озере Байкал способствовала увеличению и/или поддержанию большого разнообразия порядка генов в их мт геномах.

Предложенный метод визуализации и количественной оценки вариабельности порядков генов будет в дальнейшем использован для анализа большего количества мт геномов животных из разных таксономических групп.



Реконструкция регулонной структуры *Methylovivimicrobium alcaliphilum* 20ZR на основе массового анализа транскриптомных данных

Т.С. Соколова¹, С.К. Колмыков¹, М.А. Куляшов¹, Р. Гамильтон²,
Т.М. Хлебодарова¹, М.Г. Калюжная², И.Р. Акбердин¹

¹ Университет Сириус, Сириус, Россия

² San Diego State University, San Diego, USA

lynxl@list.ru

Изучение метанотрофных бактерий представляет собой важное направление исследований в области биотехнологии, поскольку эти организмы обладают потенциалом для использования метана в качестве источника углерода для производства полезных органических соединений. Сложные взаимодействия между транскрипционными факторами (ТФ) и генами-мишенями обуславливают различные молекулярные и фенотипические особенности бактерий, включая адаптацию к изменению условий окружающей среды и/или условиям культивирования. Несмотря на длительную историю изучения метанотрофов, как количественные и качественные данные, так и знания о подобных взаимодействиях весьма ограничены. Однако предположение о консервативности регуляторных взаимодействий между ТФ и генами-мишенями позволяет использовать накопленные данные для реконструкции регулонной структуры у близкородственных видов.

В рамках проведённого исследования были проанализированы опубликованные профили генной экспрессии двух метанотрофных организмов: *Methylovivimicrobium alcaliphilum* 20ZR и *Methylovivimicrobium buryatense* 5GB1 в аналогичных условиях культивирования (наличие в составе среды ионов меди, кальция, лантана; лимитирование по метану и кислороду), что позволило сформировать первую версию регуляторной сети у этих метанотрофов. Для решения этой задачи был применён алгоритм GENIE3 [1].

Для функциональной аннотации корегулируемых генных кластеров использовались информация о составе метаболических путей KEGG, классификация генов по COG-категориям, Gene Ontology, а также данные об оперонной организации генома. Также для реконструкции регуляторной сети генов были использованы данные об ортологии известных и предполагаемых ТФ. В результате были выявлены уже известные корегулируемые группы генов, такие как гены *mxaF* и *mxaI*, кодирующие Са-зависимую метанолдегидрогеназу, и родственные гены *mxaR* и *mxaJ*, которые снижают уровень экспрессии в присутствии лантаноидов [2]. А также были обнаружены несколько новых кластеров генов, контролируемых одним или несколькими потенциальными ТФ. Например, было показано в условиях гипоксии снижение уровня экспрессии у кластера генов, в большинстве своем связанных с транспортом и регуляцией метаболизма азота, а единственный их коэкспрессируемый потенциальный ТФ — CRP, ортолог которого у *E. coli* является регулятором экспрессии генов утилизации источников углерода в отсутствие глюкозы, регулирует также экспрессию *GlnG* — известного ТФ, регулирующего, главным образом, транспорт и метаболизм азота в бактериальной клетке.

[1] Huynh-Thu V. et. al., 2010, doi:10.1371/journal.pone.0012776

[2] Akberdin, I. R. et al., 2018, doi:10.3389/fmicb.2018.02735.

Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ (проект № 23-24-00606).



Мобилом кишечника человека как фактор распространения антибиотикорезистентности

Е. В. Старикова¹, Е. Н. Ильина¹

¹ НИИ Системной Биологии и Медицины Роспотребнадзора, Москва

hed.robin@gmail.com

Распространение генов антибиотикоустойчивости и возникновение мультирезистентных штаммов патогенных бактерий является одной из актуальных проблем современности.

Предполагается, что микробиота кишечника может служить резервуаром генов устойчивости к антибиотикам, которые могут передаваться от комменсальных бактерий к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам. В то же время микробиота кишечника характеризуется высоким уровнем горизонтального переноса генов, в котором принимают участие различные мобильные генетические элементы (МГЭ). Вклад различных мобильных элементов в распространение генов устойчивости к антибиотикам на данный момент оценен лишь частично: исследования проводились с использованием данных полногеномных сборок известных бактерий и для отдельных типов мобильных элементов. Использование данных метагеномного секвенирования для оценки тотального мобилома (совокупности мобильных генетических элементов) микробиоты кишечника человека позволит внести вклад в понимание закономерностей распространения антибиотикоустойчивости.

Целью нашей работы являлось установление связи между мобиломными и резистомными профилями микробиоты кишечника человека.

В ходе работы нами была составлена база маркерных генов мобильных генетических элементов, позволяющая оценивать относительную представленность разных типов мобильных элементов в данных метагеномного секвенирования, минуя этап сборки. Для составления мобиломных профилей на основе базы МГЭ нами были использованы общедоступные метагеномные данные лонгитудных исследований микробиоты кишечника человека. Всего было проанализировано более 1500 образцов. Для данных образцов были также составлены резистомные профили с использованием общедоступной базы генов антибиотикоустойчивости MEGARes3.0. Были оценены корреляции между представленностью генов мобилома и генов резистома, в результате чего были выявлены как мобильные элементы, ассоциированные с целым рядом детерминант антибиотикоустойчивости (такие как IS609, ISAs1 и другие), так и гены антибиотикоустойчивости, ассоциированные с рядом различных МГЭ (такие как ген устойчивости к тетрациклину *tetQ*, а также ряд генов эффлюксных насосов и их регуляторов).

Полученные данные могут быть использованы для разработки маркерных систем, позволяющих оценивать потенциал мобильности резистома микробных сообществ.

Работа была выполнена при поддержке ГЗ № 122030900064-9.



Биоинформатический анализ полиморфизма генов интерналинов *inlA* и *inlB* штамма *Listeria monocytogenes* АУФ

С.С. Зайцев¹, Н.В. Кичемазова¹, М.С. Лаврухин¹, Д.Г. Оглодина¹, О.С. Ларионова¹, В.А. Федорова¹

¹ ФГБОУ ВО Вавиловский университет, г. Саратов

feodorovav@mail.ru

Listeria monocytogenes (Lm) является факультативным внутриклеточным возбудителем пищевого происхождения, вызывающим листериоз животных и человека, редкой, но потенциально тяжелой инфекцией с проявлениями гастроэнтерита, сепсиса, менингита, энцефалита, а также мертворождения в группах риска вплоть до летального исхода (до 30% случаев). Листерии обладают высокой адаптивной способностью в неблагоприятных условиях среды, в том числе могут долгое время сохраняться в продуктах животноводства, что представляет серьезную опасность для общественного здравоохранения. Одной из важнейших мер профилактики листериоза у сельскохозяйственных животных является вакцинация. В РФ применяют живые аттенуированные вакцины на основе слабовирулентного штамма листерий АУФ.

Генетические детерминанты вирулентности и инвазии Lm хорошо охарактеризованы у диких и полевых штаммов возбудителя листериоза. Информация о структурно-функциональных свойствах генов интерналинов А и В (*inlA* и *inlB*), ответственных за активную инвазию в клетки организма-хозяина, практически отсутствует. Кроме того, роль этих генов в аттенуации листериозных штаммов остается неизученной.

Целью работы явилось изучение генетического полиморфизма генов *inlA* и *inlB* аттенуированного штамма АУФ относительно полновирулентного дикого штамма Lm FDAARGOS_607.

Сравнение нуклеотидных последовательностей генов *inlA* и *inlB* штаммов Lm АУФ и FDAARGOS_607, доступных в открытой базе данных NCBI GenBank, проводили путем множественного выравнивания с использованием ПО Multalin. Молекулярное типирование и определение аллельных профилей указанных генов выполняли с использованием базы данных PubMLST.

Нуклеотидные сиквенсы генов *inlA* и *inlB* у штаммов Lm АУФ и FDAARGOS_607 оказались полностью идентичны по длине и составили 2403 и 1893 bp, соответственно. При этом нами было обнаружено существенное различие аллельных профилей обоих генов указанных штаммов. Так, штамм Lm АУФ обладал следующими аллельными профилями: *inlA* — 2, *inlB* — 2, в то же время референтный штамм FDAARGOS 607 *inlA* — 3, а *inlB* — 4. Более того, в нуклеотидных последовательностях генов *inlA* штамма АУФ относительно референтного нами обнаружено 78 SNP, из них 18 являлись несинонимичными. Для *inlB* выявлено 142 SNP, из которых 40 привели к аминокислотным заменам, миссенс-мутациям в соответствующих экспрессируемых продуктах. В целом гомология генов *inlA* и *inlB* не превышала 96,8% и 92,3%. Полученные данные о выраженном полиморфизме генов *inlA* и *inlB* могут указывать на их потенциальное участие в аттенуации штамма Lm АУФ, применяемого в качестве живой ветеринарной вакцины.

Исследование выполнено при поддержке РНФ, проект № 22-16-00165.



Изучение первичного и вторичного метаболома растений в условиях их адаптации к стрессам

Н.В. Фролова¹, Т.Е. Билова^{1, 2}, А.А. Фролов¹

¹ Институт Физиологии Растений им. Тимирязева РАН, Москва, Россия

² Кафедра физиологии и биохимии растений, Санкт-Петербургский Государственный Университет,
Санкт-Петербург, Россия

frolovanadja@yandex.ru

Ключевые слова: абиотические стрессы, масс-спектрометрия, первичные и вторичные метаболиты.

Стрессовые факторы окружающей среды негативно влияют на рост и развитие растений, приводя к снижению урожайности и качества сельскохозяйственной продукции, непосредственно влияя на жизнеспособность и динамику прорастания семян, развитие корневой системы, синтез хлорофилла и эффективность фотосинтеза. Засуха, засоление, воздействие экстремальных температур, дефицит питательных веществ и гипоксия считаются основными абиотическими факторами среды, оказывающими негативное влияние на растения, в первую очередь — в силу глубоких перестроек метаболизма и развития окислительного стресса в тканях растений. Одним из механизмов приспособления растений к непрерывному и долговременному действию стрессоров является так называемая метаболическая адаптация, т.е. глубокая перестройка метаболизма растения, направленная на успешное выживание в неблагоприятных условиях. В лаборатории аналитической биохимии и биотехнологии ИФР им. Тимирязева РАН был разработан интегрированный подход, необходимый для получения комплексной картины метаболических изменений в условиях стресса и включающий в себя анализ первичного и вторичного метаболома растений. В рамках предложенного нами подхода, анализ первичных термостабильных и термолабильных метаболитов проводился методами газовой хроматографии, сопряженной в режиме онлайн с квадрупольной масс-спектрометрией с ионизацией электронным ударом (GC-EI-Q-MS) и ион-парной обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии, сопряженной в режиме онлайн с тандемной масс-спектрометрией в трехквадрупольном масс-анализаторе (RP-IP-HPLC-QqQ-MS/MS). Вторичные метаболиты анализировали с помощью обращенно-фазовой ультра-высокоэффективной жидкостной хроматографии, сопряженной с тандемной масс-спектрометрией в гибридном масс-анализаторе, основанном на комбинации электродинамической и орбитальной ионных ловушек RP-UHPLC-ESI-LIT-Orbitrap-MS/MS. Объединённая резуль-татная матрица, построенная для первичных метаболитов и матрица, построенная для вторичных метаболитов, были процессированы с помощью онлайн-ресурса MetaboAnalyst 6.0. Анализ динамики первичного и вторичного метаболома позволил выявить метаболиты, уровень которых достоверно изменялся в ответ на действие стрессоров. Интеграция полученных данных и анализ метаболических путей позволили выявить ключевые регуляторные звенья и возможные механизмы модуляции метаболизма у растений в условиях абиотического стресса, а также сделать предположение о механизмах стрессоустойчивости.



Онтологический подход к анализу дифференциальной экспрессии генов на основе больших транскриптомных данных

Д.Ю. Ощепков¹, С.Г. Шихевич¹, О.Е. Редина¹, И.В. Чадаева¹, Р.В. Кожемякина¹, К. Золотарева¹,
Б. Хандаев¹, Е.Б. Шарыпова¹, П.М. Пономаренко¹, А.Г. Богомолов¹, Н.В. Климова¹, Н.Г. Колосова¹,
М. Назаренко², Н.А. Колчанов¹, А.Л. Маркель¹, М.П. Пономаренко¹

¹ ИЦиГ СО РАН Новосибирск

² Институт Медицинской генетики, Томск

ichadaeva@bionet.nsc.ru

Развитие методов анализа данных высокопроизводительного секвенирования транскриптомов (РНК-сек) требует новых подходов, в том числе за счет привлечения всего накопленного массива накопленных полногеномных данных. Здесь мы представляем один из примеров использования больших массивов транскриптомных данных к анализу списка дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ), выявленных при анализе профилей экспрессии генов в гиппокампе ручных и агрессивных крыс селекции ИЦиГ СО РАН [1]. Крысы этих линий характеризуются низкой и высокой стресс-реактивностью, соответственно, увеличение которой повышает риск развития гипертонии. Проведенный анализ выявил 42 ДЭГ, отличающих две эти группы крыс. Были сформированы две выборки всех доступных транскриптомных данных, полученных на нескольких модельных видах животных (4216 ДЭГ) с гипертонией, и у человека (7865 ДЭГ) при сравнении пациентов-гипертоников с условно здоровыми людьми. В каждой выборке были выделены гомологи 42-х ДЭГ крыс, связанных с реактивностью к стрессу, 151 и 157 гомологов, соответственно. Проведенный анализ в каждой из выборок выявил значимую корреляцию между изменениями уровней экспрессии, полученными в экспериментах со стресс-реактивностью на ручных и агрессивных крысах, и в экспериментах по гипертонии для гомологичных генов животных и человека. Анализ этих зависимостей методом главных компонент позволил нам получить выражения для двух главных компонент, одна из которых соответствовала гипертонии, а вторая — стресс-реактивности. На последнем этапе для каждого из выявленных 42 ДЭГ в гиппокампе ручных и агрессивных крыс и соответствующих гомологичных ДЭГ человека мы определили количество гомологичных пар ДЭГ, имеющих совпадающие знаки для главных компонент, вычисленные на основе соответствующих \log_2 -значений изменений экспрессии, и их статистическую значимость. Среди всех проанализированных генов наш анализ позволил выявить как значимое подавление уровня экспрессии β -протокадгерина и гемоглобина, определить эти гены в качестве полногеномных молекулярных маркеров гипертонии и связать их с большим внутренним диаметром сосудов и низкой вязкостью крови, соответственно [1].

- [1] Oshchepkov D., Chadaeva I., Kozhemyakina R., Zolotareva K., Khandaev B., Sharypova E., Ponomarenko P., Bogomolov A., Klimova N. V., Shikhevich S., Redina O., Kolosova N. G., Nazarenko M., Kolchanov N. A., Markel A., Ponomarenko M. Stress Reactivity, Susceptibility to Hypertension, and Differential Expression of Genes in Hypertensive Compared to Normotensive Patients. *Int J Mol Sci.* 2022 Mar 4;23(5):2835. doi: 10.3390/ijms23052835.

Работа выполнена за счет финансирования бюджетного проекта FWNR-2022–0020. Вычисления проводились с использованием ресурсов ЦКП «Биоинформатика».



Секвенирование полных диплоидных геномов высших организмов должно стать новой парадигмой в изучении ядерного генетического материала

А.В. Чемерис¹

¹ Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук
chemeris@anrb.ru

В настоящее время для высших организмов преимущественно секвенируются геномы, при сборке которых производится консенсусное восстановление одинарного набора хромосом с мозаичным расположением в них фрагментов родительских хромосом. В статье, опубликованной весной 2023 г. в журнале *Genome Research*, D. Porubsky с коллегами заметили, что они больше не считают мозаичные сборки генома человека размером 3 млрд п. н. в качестве современного уровня техники, а вместо этого рассматривают два генома для каждого собранного диплоидного генома (т. е. два по 3 млрд п. н.), где родительские гаплотипы полностью фазированы. Еще раньше на необходимость секвенирования диплоидных геномов обратил внимание J. C. Venter, в своей статье в журнале *Nature* в 2010 г. заметивший, что решение о секвенировании гаплоидного генома человека послужило сдерживающим фактором для развития новых технологий секвенирования ДНК, и было серьезной ошибкой. Закончил ту свою статью Venter словами, что «геномная революция только начинается». Спустя прошедших с того момента полтора десятилетия, можно сказать, что геномная революция по-прежнему только начинается, несмотря на значительное повышение производительности и точности секвенирования. До сих пор массово продолжают секвенироваться консенсусные гаплоидные геномы, ценность которых относительно низка и принципиально новой информации для видов с уже известными референсными геномами они практически не несут. Мы, считая нынешние гаплоидные геномы по сути квази-геномами, поскольку они не предоставляют точную информацию о связи генотипа с фенотипом, тоже неоднократно в течение ряда лет обращали внимание на необходимость секвенирования диплоидных геномов и активно движемся в этом направлении. С учетом цис- и транс-положений замен нуклеотидов в различных экзонах могут восстанавливаться неверные последовательности аминокислот, что может приводить к искаженному представлению о структуре и функциях соответствующих белков. Без детальной информации обо всех аллелях из полного комплекта хромосом невозможна персонализированная медицина будущего. Растительная геномика также нуждается в подобных диплоидных геномах, которых уже секвенировано около 100 для более чем 60 видов растений, тогда как квазигеномы секвенированы для почти тысячи видов растений.



Протеогеномный анализ для контроля состава пищевой продукции на примере определения фальсификации травяных напитков

И.К. Чудинов^{1, 2}, А.В. Лукина-Гронская¹, А.А. Криницына³, М.И. Антипин³, М.В. Логачева⁴,
Е.В. Корнеев¹, И.О. Бутенко¹, А.С. Сперанская¹

¹ НИИ СБМ Роспотребнадзора, Москва

² МФТИ (НИУ), Москва

³ МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

⁴ Сколковский институт науки и технологий, Москва

ikchudinov@gmail.com

Производственная фальсификация является основной причиной несоответствия фактического состава продуктов питания. Применение секвенирования генетических маркеров (ДНК-баркодов) является методом идентификации фальсификатов, но пока что еще не распространенным в практике. Предварительная обработка продуктов питания и различия в GC-составе могут приводить к неравной амплификации или полной утрате компонентов ДНК-баркодов, поэтому результаты геномного анализа нуждаются в независимом методе подтверждения.

Для независимого подтверждения результатов секвенирования ДНК-баркодов может применяться протеомный анализ, так как последовательности белков могут являться маркерами организмов со сравнимой специфичностью, при этом белки являются гораздо более химически устойчивыми биополимерами.

Для проверки гибридного подхода были проанализированы 24 пробы травяных сборов нескольких российских производителей. Для контроля состава травяных сборов был проведен метагеномный анализ по амплифицированным участкам геномной ДНК (internal transcribed spacers, ITS). В отдельных пробах травяных чаев были обнаружены незаявленные растительные компоненты.

Результаты, полученные с помощью анализа ДНК-баркодов, подтвердили с помощью панорамного протеомного анализа. Разделение «триптических» пептидов тотального белка проб проводилось в режиме нанопотоковой обращенно-фазовой хроматографии с детекцией на тандемном масс-спектрометре высокого разрешения в режиме данных-зависимого анализа (DDA). Идентификация проводилась против вырожденного набора белков хлоропластов, соответствующих таксономическим группам, определенным по результатам метагеномного анализа.

Данные протеомного анализа подтверждают результаты секвенирования. Мы полагаем, что протеогеномный подход в перспективе позволит существенно повысить достоверность выводов о фальсификации состава продуктов.

Работа выполнена в рамках ГЗ «Разработка алгоритмов для выявления новых, уникальных последовательностей ДНК или РНК в метагеномах и их фенотипическая характеристика in vitro» (No. 12203090069-4).



Пангеномный анализ прокариот как эффективный инструмент в таксономических и функциональных исследованиях представителей семейств *Micrococcaceae* и *Azospirillaceae*

С. Ю. Щеголев¹, Г. Л. Бурьгин¹, Л. А. Дыкман¹, Л. Ю. Матора¹

¹ ИБФРМ РАН

shegolev_s@ibppm.ru

В работах [1, 2] представлены результаты исследований внутри- и межродовых таксономических соотношений между представителями семейства *Micrococcaceae* с применением филогенетических тестов 16S рРНК, ITS1, ANI, AAI, GTDB и AAI-profiler. Количественные оценки на основе полногеномных данных в тестах ANI, AAI и AAI-profiler обнаружили противоречия в исторически сложившихся видовых предписаниях (наименованиях) штаммов. В том числе, по критерию ANI > 95% представители разных видов рода *Kocuria* [1] должны быть отнесены к одному и тому же виду, при том что рассмотренные штаммы были выделены из весьма контрастных эколого-географических местообитаний. Аналогичные «нестыковки» обнаружены также в родовых предписаниях в анализе штаммов рода *Rothia* [2] при использовании критерия AAI > 65% внутривидовой кластеризации видов. В рамках парадигмы с вертикально наследуемыми филогенетическими маркерами это должно рассматриваться как сигнал к их последующей таксономической реклассификации. При этом весьма информативным оказался пангеномный анализ [3], выявляющий различия между штаммами среди акцессорных и штаммоспецифичных генов, определяющих их индивидуальность и, возможно, потенциал адаптации к разным экологическим нишам с соответствующими фенотипическими признаками. Таковой был использован нами также в исследованиях представителей семейства *Azospirillaceae* в связи с серотипированием азоспирилл.

- [1] Щеголев С. Ю. с соавт. Филогенетический и пангеномный анализ представителей семейства *Micrococcaceae*, родственных стимулирующей рост растений ризобактерии, изолированной из ризосферы картофеля (*Solanum tuberosum* L.). *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2024 (принята к опубликованию).
- [2] Shchyogolev S. Yu. et al. Quantitative intra- and intergeneric taxonomic relationships among *Micrococcaceae* strains reveal contradictions in the historical assignments of the strains and indicate the need for species reclassification. *Archives of Microbiology*. 2024 (accepted for publication).
- [3] Chen X. et al. PGAWeb: A Web server for bacterial pan-genome analysis. *Front. Microbiol.* 2018. Vol. 9. Art. 1910. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01910.



Наличие гена *mprF* и его фенотипическое проявление у бактерий рода *Listeria*

Е. В. Ябурова¹, Л. И. Кононова¹

¹ ФФИЦ УрО РАН, Пермь

yaburova_k@mail.ru

Бактерии рода *Listeria* широко распространены в окружающей среде. На сегодняшний день известно 27 видов листерий, однако опасность для людей представляет только *L. monocytogenes*, а для животных ещё и *L. ivanovii*. Применение антибактериальных соединений в пищевой и сельскохозяйственной промышленности способствует развитию множественной лекарственной устойчивости бактерий в целом и листерий, в частности [1]. Одним из универсальных способов защиты бактерий от повреждающего действия катионных антибиотиков является снижение общего отрицательного заряда поверхности клетки с помощью присоединения положительно заряженных аминокислотных остатков к фосфолипидам мембран. Реакция катализируется ферментом MprF (multiple peptide resistance factor), который кодируется геном *mprF* [2]. До сих пор ген *mprF* и фермент MprF листерий остаются малоизученными. Немногочисленными научными данными об инактивации гена *mprF* листерий доказано приобретение ими чувствительности к катионным соединениям [3].

Целью данной работы было выявление фенотипов, обусловленных работой гена *mprF*, у бактерий *L. grayi* МКМ-1, *L. welshimeri* Bel-19, *L. seeligeri* ATCC 35967 и *L. innocua* M2 (получены из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболенск»), а также оценка наличия гена *mprF* у разных видов рода *Listeria* биоинформатическими методами. Методом множественного выравнивания последовательностей гена *mprF*, посредством инструмента BLAST, проведен его поиск среди эталонных геномов всех видов листерий, которые доступны в базе данных NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>). В качестве шаблона служила последовательность гена *mprF* *L. monocytogenes* (номер в GenBank: NC_003210.1). Ген *mprF* обнаружен у представителей всех 27 видов листерий.

Методом тонкослойной хроматографии был изучен фосфолипидный профиль бактерий *L. grayi* МКМ-1, *L. welshimeri* Bel-19, *L. seeligeri* ATCC 35967 и *L. innocua* M2. Преобладающими фосфолипидами исследованных листерий оказались кардиолипин и фосфатидилглицерин, а также их аминокислотированные производные. Бактерии *L. welshimeri* Bel-19, *L. seeligeri* ATCC 35967 и *L. innocua* M2 содержали эти фосфолипиды как в аминокислотированной, так и в нативной форме. У бактерии *L. grayi* МКМ-1 не был обнаружен аминокислотированный кардиолипин. Однако количество аминокислотированного фосфатидилглицерина *L. grayi* было сопоставимо с суммарным количеством аминокислотированных фосфолипидов остальных изученных видов.

Таким образом, ген *mprF* и фенотип, опосредованный его работой, широко распространены среди бактерий рода *Listeria*. Дальнейшее изучение зависимости функционирования гена *mprF* и чувствительности листерий к катионным соединениям могут привести к выбору решений по преодолению резистентности этих бактерий к катионным антибиотикам.

- [1] Kayode A. J., Okoh A. I. Assessment of multidrug-resistant *Listeria monocytogenes* in milk and milk product and One Health perspective // PLoS One, 2022, V.17(7), doi: 10.1371/journal.pone.0270993
- [2] Peschel A., Jack R. W., Otto M., et al., *Staphylococcus aureus* resistance to human defensins and evasion of neutrophil killing via the novel virulence factor MprF is based on modification of membrane lipids with l-lysine // The J. of experimental medicine, 2001, V.193(9), P. 1067–1076, doi:10.1084/jem.193.9.1067
- [3] Nowak J., Visnovsky S. B., Cruz C. D., Fletcher G. C., van Vliet A. H. M., Hedderley D., Butler R., Flint S., Palmer J., Pitman A. R. Inactivation of the gene encoding the cationic antimicrobial peptide resistance factor MprF increases biofilm formation but reduces invasiveness of *Listeria monocytogenes* // J Appl Microbiol, 2021, V.130(2), P. 464–477, doi: 10.1111/jam.14790

Симпозиум 4: **Медицинская генетика и моделирование болезней
человека**

Symposium 4: **Medical Genetics and Modeling of Human Diseases**



Разработка флуоресцентных зондов на основе dCas9 и флуоресцентных белков, способных образовывать FRET-пары, для визуализации геномных локусов

Г. А. Абушинова^{1, 2}, В. В. Жердева², Л. Г. Малошенко^{2, 1}

¹ Институт общей генетики РАН, Москва 2ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва
gerelabushinova@yandex.ru

Существующие подходы к изучению 3D-структуры генома включают и методы визуализации локусов хроматина на живых клетках с использованием инактивированной эндонуклеазы Cas 9 (d(dead) Cas9). На сегодняшний день продемонстрированы возможности такого мечения на основе различных ортологов dCas9 и широкой палитры цветных флуоресцентных белков (FP). Однако для изучения динамики хроматина интересным представляется определение ближних взаимодействий в реальном времени с использованием метода FRET и сенсоров на основе цветных белков. В связи с этим применение данного подхода для визуализации ближних взаимодействий локусов хроматина представляет большой интерес, поскольку инструменты, позволяющие неинвазивно исследовать пространственную организацию генома живой клетки, могут быть в дальнейшем использованы для развития методов и подходов персонализированного лечения социально-значимых заболеваний.

В данной работе проведен подбор пар химерных белков (dCas9-FP) на основе различных ортологов dCas9 (sp, st1, Nm) и флуоресцентных белков (mRuby3, mScarlet-I, mCherry, EGFP, mClover3, mNeonGreen), для разработки системы мечения локусов генома с возможностью реализации эффективного внутриядерного FRET.

С помощью флуоресцентной микроскопии опухолевых клеток остеосаркомы человека MNNG/HOS, экспрессирующей различные комбинации dCas9-FP, показано, что исследуемые химеры флуоресцентных белков различаются способностью к фолдингу (образованию химерных флуоресцентных продуктов), транспорту в ядро и накоплению в органеллах клеток. Анализ времени жизни донора и акцептора в составе химерных молекул с ортологами dCas9 в клеточных линиях MNNG/HOS показал, что для FRET наиболее оптимальны пары EGFP/mCherry, mNeonGreen/mCherry и mClover3/mRuby3. В результате были созданы и отобраны стабильные клеточные линии, экспрессирующие пары dCas9-FP, которые показывали высокую эффективность внутриядерного транспорта химер. При помощи TET-оп индуцибельной экспрессии dCas9-FPs исследована динамика развития флуоресценции в опухолевых клетках и мышечных моделях: экспрессия флуоресцентных химерных белков наблюдалась в клетках через 24 ч после индукции доксициклином, дальнейшее накопление флуоресцентных продуктов соответствовало скорости созревания химерных белков и различалось с течением времени для каждой отобранной пары FPs. Отсутствие флуоресценции в клетках до индукции Dox свидетельствовало о жесткой индуцируемой регуляции экспрессии химер. Максимальный уровень флуоресценции химерных продуктов в клетках был детектирован через 72 часа после добавления доксициклина, в отличие от опухолевых моделей, в которых увеличение интенсивности флуоресцентного сигнала наблюдалось до шестого дня измерений.

Таким образом, были отобраны пары dCas9-FP, которые схожи по динамике нарастания сигнала в ядрышковых организаторах (структурах), минимальной внеядерной локализации и наложению флуоресцентного сигнала зеленой и красной химеры в ядрышках, согласно требованиям эффективной реализации FRET.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, соглашение № 22-14-00205.



Анализ межгенных взаимодействий полиморфных локусов генов TLRs при развитии тяжелой формы COVID-19

А. М. А. Аль-Джавади¹, И. О. Покудина¹, Л. В. Гутникова¹, А. А. Александрова¹

¹ Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону

aalexandrova@mail.ru

Актуальность. COVID-19 — опасное, эпидемическое инфекционное заболевание, вызванное инфицированием клеток организма одноцепочечным РНК-содержащим вирусом тяжелого острого респираторного синдрома SARS-CoV-2. Врожденная иммунная система обеспечивает защиту первой линии при вирусных инфекциях. Оперативность и качество иммунного ответа зависит от эффективности распознавания патогена Toll-подобными рецепторами (TLRs) и дальнейшей TLR-опосредованной активацией внутриклеточных сигнальных путей. Накапливающиеся данные подтверждают роль нарушенной передачи сигналов TLR в патогенезе SARS-COV-2. Мощный выброс цитокинов иммунной системой (IL-6, IL-10 и TNF α) в ответ на вирусную инфекцию могут привести к сепсису, неконтролируемому воспалению, приводящему к полиорганной недостаточности, особенно поражая сердечную, печеночную и почечную системы.

Целью данной работы было изучение роли межгенных взаимодействий генов *TLR2 rs5743708*, *TLR3rs3775291*, *TLR 4 rs4986790*, *TLR9 rs5743836* в развитии тяжелой формы COVID-19.

Материалы и методы. В работе были генотипированы образцы ДНК 109 пациентов с легким течением COVID-19, 103 — со средней тяжестью, 81 — с тяжелым течением заболевания, обоого пола в возрасте 22–75 лет. ДНК из лейкоцитов периферической крови выделяли термокоагуляционным методом. Генотипирование проводили методом аллель-специфической ПЦР с последующей УФ-детекцией результатов в 3% агарозном геле с добавлением бромистого этидия. Анализ межгенных взаимодействий проводился при помощи метода снижения размерности MDR (multifactor dimensionality reduction) в программном обеспечении MDR 3.0.2.

Результаты. Определены статистически значимые сочетания полиморфизмов генов TLRs, межгенное взаимодействие которых может повышать риск развития тяжелого течения COVID-19. С высоким риском ассоциированы 3 модели: однолокусная *Leu412Phe TLR3* (OR=2,946, 95% CI 1,4891–5,8283, $p=0.0015$), двухлокусная *Leu412Phe TLR3/ T-1237C TLR9* (OR=6.2182, 95% CI 2.0691–18.6871, $p=0.0005$), трехлокусная *Arg753Gln TLR2 / Leu412Phe TLR3/ Asp299Gly TLR4* (OR=6.2182, 95% CI 2.0691–18.6871, $p=0.0069$). В результате анализа выявлено наличие выраженного антагонизма между генами *TLR4 rs4986790* и *TLR9 rs5743836*, умеренного антагонизма между полиморфными маркерами *TLR2 rs5743708* и *TLR3 rs3775291* в отношении тяжелой формы COVID-19. Согласно результатам исследования, полиморфный сайт *Leu412Phe* гена *TLR3* оказал наибольшее влияние на повышение вероятности тяжелой формы COVID-19, уровень энтропии составил 4.08%. Предсказательный потенциал полиморфизма *T-1237C* гена *TLR 9* — 1,35%, полиморфизмов *Arg753Gln* гена *TLR2* и *Asp299Gly* гена *TLR 4* значительно ниже — 0.99%.

Таким образом, можно предположить, что комбинации полиморфных локусов изученных генов, являются маркерами повышенного риска тяжелого течения COVID-19.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности, проект № FENW-2023–0018.



МФТП-индуцированная хроническая модель болезни Паркинсона

А.Х. Алиева¹, М.И. Шадрина¹, М.М. Руденок¹, П.А. Сломинский¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт», Москва

anelja.a@gmail.com

Болезнь Паркинсона (БП) является одним из самых распространенных нейродегенеративных заболеваний. Развитие БП связано с гибелью различных типов нейронов, при этом ведущий вклад в патогенез заболевания вносит гибель дофаминергических нейронов (ДА-нейронов). БП характеризуется длительным скрытым периодом развития патологических процессов с последующей манифестацией двигательных симптомов, на основе которых ставится диагноз. Несмотря на интенсивные исследования и открытие целого ряда генов и процессов, вовлеченных в патогенез БП, картина ранних стадий заболеваний требует более детального уточнения.

Для изучения ранних стадий заболевания широко используются модели на основе введения специфического для ДА-нейронов токсина МФТП (1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин). Обычно при этом используются высокие дозы токсина, которые приводят к развитию паркинсон-подобного фенотипа за очень короткий промежуток времени. Для более детального анализа ранних стадий БП нами была разработана хроническая модель на основе многократного сочетанного введения токсина МФТП (12 мг/кг через 3,5 дня) и пробенецида (250 мг/кг) мышам линии C57BL/6. Наблюдение за животными проводилось в течение 6 месяцев. Для комплексной оценки модели были проанализированы моторные изменения с использованием метода «открытое поле», был проведен анализ метаболитов в стриатуме методом ВЭЖХ–МС, оценка количества ТГ-положительных нейронов в черной субстанции методом ИГХ, а также полнотранскриптомное профилирование черной субстанции. Самые выраженные изменения в моторном поведении были выявлены через 1,5 и 2 месяца. Падение уровня дофамина в стриатуме более чем в 2 раза наблюдалось через 1 неделю и продолжалось вплоть до 3 месяцев. Введение мышам с хронической моделью паркинсон-подобного фенотипа препарата на основе L-DOPA показало значительное улучшение фенотипа у исследуемых животных, что также доказывает валидность модели.

Полученная модель воспроизводит процессы, происходящие на ранних стадиях патогенеза БП, она может быть использована для исследования патогенетической картины БП, а также для тестирования препаратов для терапии БП.

Финансирование: работа поддержана грантом РНФ № 20-15-00262П и соглашением № 075-15-2021-1357.



Механизм противовирусного действия наночастиц серебра

М. Аль Фаррух^{1, 2, 3}, Д.Н. Магазенкова^{1, 2, 3}, Е.А. Скоморохова^{1, 2}

¹ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург,

² Университет ИТМО, Санкт-Петербург,

³ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого

mouhammad1farroukh@gmail.com

Рабочая гипотеза, предполагающая, что репродукция вируса гриппа А (ВГА) зависит от статуса меди (Cu) в крови, главными показателями которого являются концентрации общей Cu, оксидантного и иммунореактивного церулоплазмينا (ЦП), основного Cu-транспортного белка, в представленной работе проверена экспериментально. Для снижения показателей статуса меди (ПСМ) использовали наночастицы серебра (AgNPs), диссоциирующие в биологических средах с образованием Ag¹⁺. Так как Cu¹⁺ и Ag¹⁺ изоэлектронны, Ag¹⁺ связываются с Cu-транспортными белками, переносятся в гепатоциты, замещают Cu в ЦП и с Ag-ЦП секретируются в кровотоки. Ag-ЦП не обладает оксидантной активностью (ОА). Мышей линии СВА, предварительно обработанных AgNPs (0,2 или 2 мг/кг массы тела) до низких ПСМ, заражали летальной дозой модельного ВГА (А/Южная Африка/3626/2013 (H1N1) pdm09). Выживаемость в группах составила 50% и 70%, соответственно, для низкой и высокой доз AgNPs. У мышей, получавших высокую дозу AgNPs, на 3 день после заражения ВГА, в легких была оценена транскрипционная и трансляционная активность генов, кодирующих белки-переносчики Cu, Cu-ферменты и Cu-связывающие белки. Результаты qПЦР и иммуноблотинга показали, что концентрация мРНК и полипептидов генов *CTR1*, *ATOX1*, *ATP7A*, *Cp*, *MT1* и *Prnp* увеличивается при заражении ВГА и снижается при обработке AgNPs. Напротив, уровень мРНК и содержание белка СОД1, а также его энзиматическая активность подавляются ВГА, однако при обработке AgNPs экспрессия СОД1 восстанавливается до контрольных значений. Титр вируса, измеренный в легких с помощью ПЦР, был ниже у мышей, обработанных AgNPs, и было обнаружено, что AgNPs подавляют активность вирусных генов. Уровень про- и анти-воспалительных цитокинов у мышей, зараженных ВГА, не зависела от ПСМ. В опытах *in vitro* на лейкоцитах интактных мышей продемонстрировано, что Ag-ЦП, по сравнению с холо-ЦП, обладает низкой апоптоз-индуцирующей активностью. Обсуждаются 3 механизма, объясняющих противовирусный эффект AgNPs: подавление индуцированного вирусом апоптоза нейтрофилов из-за дефицита холо-ЦП, усиление внутриклеточной антиоксидантной защиты и снижение репликации ВГА из-за дисбаланса меди.

Работа поддержана грантом РФФИ N20-74-10087.



Дифференциальная экспрессия генов *NBN*, *ATM*, *MLH1* в клеточных моделях астмы и туберкулеза

Н.П. Бабушкина¹, Е.Ю. Брагина¹, И.Ж. Жалсанова¹, А.Н. Кучер¹

¹ НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, Томск

nad.babushkina@medgenetics.ru

Изучена дифференциальная экспрессия генов *ATM* и *MLH1* (ассоциированных с БА) и *NBN* (продукт которого, вероятно, вовлечен в формирование дистропии астмы и туберкулеза) в клеточных моделях. Для создания клеточных моделей мононуклеары периферической крови здоровых доноров ($n = 10$) инкубировали в присутствии индукторов: IFNG, TDM, LPS (для моделирования туберкулеза) и IL4 (для моделирования астмы), а также без индукторов (NONE). Уровень экспрессии оценивали по методу $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$ в двух временных точках — 1 час и 24 часа. В качестве референсного использовался уровень экспрессии гена *GAPDH*. Сравнение уровней экспрессии генов *ATM*, *MLH1* и *NBN* проводили с помощью критерия Вилкоксона.

Не менее чем двукратные различия при $p < 0,05$ получены в отношении гена *ATM* после суточной инкубации в присутствии как IFNG ($2^{(-\Delta\Delta Ct)} = 2,03$; $p = 0,037$), так и TDM ($2^{(-\Delta\Delta Ct)} = 2,02$; $p = 0,047$), а также для гена *NBN* после суточной инкубации в присутствии IFNG ($2^{(-\Delta\Delta Ct)} = 3,81$; $p = 0,009$).

Характер экспрессионного ответа изученных генов различается в ответ на воздействие каждого из стимуляторов. Если на IFNG наиболее выражен ответ гена *NBN*, то на IL4 — генов *MLH1* и *ATM*, на LPS — генов *NBN* и *MLH1*, на TDM — гена *ATM*. Зарегистрированы статистически значимые различия между уровнями экспрессии в двух временных точках для гена *NBN* при стимуляции (для всех использованных стимуляторов, $p < 0,005$), и для гена *MLH1* при стимуляции IL4 ($p = 0,005$). В некоторых случаях наблюдается нелинейное изменение экспрессии (для гена *ATM* — в ответ на IL4 и TDM, для гена *MLH1* — в ответ на IL4): на раннем этапе происходит снижение уровня, на более позднем — повышение, что существенно меняет амплитуду изменений экспрессии, происходящих за время инкубации клеток со стимулятором. С учетом вышесказанного, изменение экспрессии гена *MLH1* при воздействии IL4 максимально среди изученных генов ($2^{(-\Delta\Delta Ct)} = 2,33$), хотя статистически и незначимо ($p = 0,114$).

Таким образом, изучение экспрессионного ответа генов *ATM*, *MLH1* и *NBN* в мононуклеарах периферической крови здоровых доноров на различные стимулы подтвердило вероятность вовлеченности в противотуберкулезный ответ продуктов генов *ATM* и *NBN*, а в развитие атопии — гена *MLH1*.



Возраст начала диеты влияет на накопление белого жира и экспрессию генов в метаболических тканях у мышей с ожирением

Н.М. Бажан¹, Е.Н. Макарова¹, А.Ю. Казанцева¹, А.Д. Дубинина¹, Т.В. Яковлева¹

¹ ИЦиГ СО РАН, Новосибирск

bazhan-nm@yandex.ru

Для изучения механизмов развития и купирования ожирения используют модели полигенного диет-индуцированного ожирения на мышах. Диета с повышенным количеством жиров и углеводов (диета кафетерия) максимально соответствует той пище, которая вызывает ожирение в популяции человека, и потребление которой может начинаться уже в детском возрасте. Неизвестно, влияет ли возраст начала диеты на скорость набора массы тела и на механизмы адаптации к ожирению. Цель работы — изучить, как у взрослых мышей с диет-индуцированным ожирением, возраст начала диеты влияет степень ожирения и на молекулярно-физиологические механизмы адаптации, в частности, на транскрипционную активность генов метаболических тканей.

Самцы мышей C57Bl/6 были разделены на три группы: мыши первой группы потребляли стандартный корм (контроль), второй и третьей — корм с повышенным содержанием жиров и углеводов (диета кафетерия, ДКаф). Мыши второй группы начинали диету с препубертатного возраста 7 недель (7ДКаф), третьей группы — с раннего взрослого возраста 17 недель (17ДКаф). Метаболические показатели у всех мышей оценивали в возрасте 27 недель, в котором все мыши, помещённые на диету кафетерия, имели ожирение.

В возрасте 27 недель 7ДКаф- и 17ДКаф мыши не различались по массе тела, которая была на 50% выше, чем в контроле. Следовательно, скорость набора веса у 7ДКаф была ниже, чем у 17ДКаф мышей. Кроме того, у 7ДКаф мышей, относительно 17 ДКаф мышей, было снижено количество белого жира и уровни его гормонов (лептина и адипонектина) в крови. Fibroblast Growth Factor 21 (FGF21), играет важную роль в адаптации организма к ожирению, его уровень в крови, экспрессия гена *Fgf21* в печени и в буром жире были значительно выше у 7ДКаф самцов, чем у 17ДКаф самцов. Наряду с этим, у 7ДКаф самцов относительно 17ДКаф самцов, в метаболических тканях была повышена экспрессия других генов, регулирующих углеводно-жировой обмен: в мышцах — экспрессия генов, контролирующих чувствительность к инсулину (*Insr*, *Irs1* и *Slc2a4*) и окисление жирных кислот (*Cpt1b*, *Ucp3*); в белом жире — экспрессия генов, контролирующих липолиз (*Lipe*) и термогенез (*Dio2*, *Ucp1*) и в буром жире — экспрессия гена, контролирующего термогенез (*Ucp1*). Экспрессия гена ко-рецептора FGF21 *Klb* является маркером чувствительности к FGF21. Независимо от возраста начала диеты, у ожиревших мышей в жировой ткани экспрессия *Klb* была снижена, а в мышцах — повышена относительно контроля. Следовательно, усиление экспрессии генов в мышцах у 7ДКаф мышей могло быть связано с действием FGF21, а в жировой ткани — с действием других, не учтенных в работе факторов адаптации.

Таким образом, возраст начала диеты кафетерия не влиял на степень развития ожирения у взрослых мышей, но изменял гормональные и генетические механизмы адаптации к ожирению: ожиревшие мыши с ранним началом диеты характеризовались сниженным накоплением белого жира, повышенной экспрессией в печени *Fgf21* и генов, вовлеченных в окисление жирных кислот, глюкозы и термогенеза, в мышцах, белом и буром жире.

Работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 23-15-00093.



Персистенция нуклеотидных последовательностей неструктурных белков SARS-CoV-2 в циркулирующих моноцитах спустя 12 месяцев после COVID-19

О.В. Балан¹, Н.П. Канцерова¹, Э.Л. Тихонович²

¹ Институт биологии КарНЦ РАН, г. Петрозаводск

² Медицинский институт ПетрГУ, г. Петрозаводск

ovbalan@mail.ru

Цель исследования: идентификация нуклеотидных последовательностей неструктурных белков вируса SARS-CoV-2 в циркулирующих моноцитах у пациентов спустя 12 мес после перенесенной коронавирусной инфекции. **Материалы и методы.** К исследованию привлечено 100 добровольцев из числа жителей Республики Карелия в возрасте 25–55 лет, перенесших COVID-19 в разной степени тяжести спустя 12 месяцев после выздоровления. При содействии кафедры факультетской терапии, фтизиатрии, инфекционных болезней и эпидемиологии Медицинского института ПетрГУ, ГБУЗ «Республиканская больница им. В. А. Баранова» от каждого участника исследования получены образцы периферической крови, а также письменное информированное согласие. Для формирования контрольной группы условно здоровых доноров использовали материал, который был получен ранее (до пандемии COVID-19). Выделенные из цельной крови методом центрифугирования в градиенте плотности мононуклеары использовали для получения классических ($CD14^+/CD16^-$), переходных ($CD14^+/CD16^+$) и неклассических ($CD14^{lo}/CD16^+$) моноцитов. В работе были использованы антитела: Elab Fluo Red 780 Anti-Human CD3, FITC Anti-Human CD16, PerCP/Cyanine 5.5 Anti-Human CD14 производства ElabScience; праймеры к нуклеотидным последовательностям, кодирующим неструктурные белки SARS-CoV-2 и белки метилтрансферазного комплекса (METTLs, WTAP, NAKAI, VIRMA). Исследования выполнены на научном оборудовании ЦКП КарНЦ РАН.

Результаты и обсуждения. У человека 85% пула циркулирующих моноцитов представляют собой классические моноциты, остальные 15% состоят из переходных и неклассических форм (Patel et al., 2017). Как правило, именно классические моноциты проявляют фагоцитарную активность и экспрессируют высокие уровни рецептора ACE-2 (Rutkowska-Zapaa et al., 2015). Следовательно, они могут быть потенциальными мишенями для инфекции SARS-CoV-2. Методом капельной цифровой ПЦП обнаружены нуклеотидные последовательности неструктурных белков Nsp1, Nsp3, Nsp4, Nsp6, Nsp14 и Nsp16 вируса SARS-CoV-2 в циркулирующих моноцитах у пациентов спустя 12 мес после перенесенного COVID-19. Наибольшее количество детектировалось в $CD14^{lo}/CD16^+$ моноцитах. Меньше всего частиц определялось в $CD14^+/CD16^-$ клетках, что возможно связано с общим уменьшением количества классических моноцитов и возрастанием числа переходных и неклассических форм после перенесенной инфекции (Patterson et al., 2021). С другой стороны, возможно именно переходные и неклассические формы являются своеобразным резервуаром для SARS-CoV-2, что может выступать в качестве определяющего фактора в процессе развития постковидных состояний, ассоциированных с хроническим воспалением и формированием фиброзных изменений в легочной ткани. Проанализирован профиль экспрессии генов, кодирующих m6A-метилтрансферазы (METTL3 и METTL14) и адаптерные белки WTAP, NAKAI и VIRMA в указанных субпопуляциях моноцитов периферической крови доноров спустя 12 мес после выздоровления. Уровень экспрессии всех адаптерных белков, в том числе и VIRMA, был значимо выше в неклассических $CD14^{lo}/CD16^+$ моноцитах в сравнении с другими формами. Показана статистически значимая взаимосвязь между содержанием РНК последовательностей неструктурных белков Nsp3, Nsp4, Nsp6 и Nsp14 и уровнем экспрессии генов, кодирующих белки метилтрансферазного комплекса.

Выводы. 1. Моноциты, преимущественно неклассические формы ($CD14^{lo}/CD16^+$), могут выступать в качестве ключевых мишеней для сохранения вирусной РНК. 2. Длительное (до года) присутствие в моноцитах последовательностей РНК вируса SARS-CoV-2 может быть обусловлено вовлечением внутриклеточных механизмов ковалентной модификации, в частности, метилтрансферазного комплекса клеток хозяина.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 23-25-10102, № 15-P23.



Особенности влияния фактора роста фибробластов 21 (FGF21) на признаки неалкогольной жировой болезни печени в моделях моногенного и полигенного ожирения у мышей

Н. Ю. Балыбина¹, Т. В. Яковлева¹, А. Ю. Казанцева¹, Е. Н. Макарова¹, Н. М. Бажан¹

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

n.yu.balybina@gmail.com

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) является одной из наиболее распространенных патологий печени, связанных с ожирением. Для моделирования ожирения и НАЖБП существует большое количество как моногенных, так и полигенных моделей. Известно, что эффективность некоторых терапевтических средств зависит от модели заболевания.

FGF21 способен улучшать состояние печени: снижает уровни АЛТ и АСТ в крови, количество липидных капель и экспрессию провоспалительных генов и генов липогенеза в печени [1]. Показано, что фармакологические эффекты FGF21 на массу тела и показатели углеводно-жирового обмена зависят от этиологии ожирения [2]. Однако неизвестно, будут ли проявляться различия во влиянии FGF21 на признаки НАЖБП в зависимости от этиологии заболевания. Цель работы: изучить особенности влияния FGF21 на состояние печени в различных моделях НАЖБП.

Исследовали самцов мышей линии C57Bl с моногенным ожирением, вызванным мутацией *Agouti yellow* в локусе Агути (*Ay*) и с полигенным ожирением, вызванным содержанием животных на диете с повышенным содержанием жиров и углеводов (диета кафетерия). По достижении ожирения мышам вводили инъекции растворителя либо FGF21 в течение 7 дней.

Независимо от его этиологии, ожирение приводило к накоплению липидных капель в печени (стеатозу). Введение FGF21 снижало массу печени, содержание крупных липидных капель в гепатоцитах и уровень инсулина в крови и при моногенном, и при полигенном ожирении. FGF21 снижал уровень лептина в крови только у мышей, содержащихся на диете кафетерия. При введении FGF21 уровень холестерина в крови и триглицеридов в печени снижался только у *Ay* мышей. FGF21 увеличивал содержание макрофагов и апоптозных телец только в печени животных *Ay*, возможно это связано с тем, что у *Ay* мышей FGF21 вызывал более выраженное снижение количества крупных липидных капель (в 9 раз), чем у мышей на диете кафетерия (1,3 раза). Возможно повышенное содержание апоптозных телец у *Ay* связано с процессом ликвидации клеток с крупными липидными каплями путем апоптоза. А увеличение количества макрофагов связано с их привлечением для утилизации апоптозных телец.

Введение FGF21 не оказывало влияния на экспрессию генов, кодирующих белки, участвующие в углеводно-жировом обмене и в процессах воспаления и фиброгенеза, в печени.

Таким образом, FGF21 снижает признаки НАЖБП в моделях моногенного и полигенного ожирения, однако при моногенном ожирении благотворное влияние более выражено, поскольку оно сопровождается большим снижением содержания липидных капель в печени и снижением содержания триглицеридов в печени. То есть чувствительность печени к терапевтическому эффекту FGF21 зависит от модели ожирения.

[1] *Tillman E. J., Rolph T.* FGF21: An Emerging Therapeutic Target for Non-Alcoholic Steatohepatitis and Related Metabolic Diseases // *Frontiers in Endocrinology*. Frontiers Media S. A., 2020. Vol. 11.

[2] *Бажан Н. М., Макарова Е. Н.* Фармакологические эффекты фактора роста фибробластов 21 (FGF21) на углеводно-жировой обмен: зависимость от пола // *Успехи физиологических наук*. — 2023. — Vol. 54, № 4. — P. 93–104.

Источник финансирования грант РФФ № 23-15-00093.



Протеинкиназа mTOR — потенциальная мишень для терапии болезни Паркинсона

А.И. Безрукова^{1, 2}, К.С. Башарова¹, Г.В. Байдакова³, Е.Ю. Захарова³, С.Н. Пчелина^{1, 2}, Т.С. Усенко^{1, 2}

¹ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина

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

³ Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова, Москва

bz.nastya96@gmail.com

Протеинкиназа mTOR рассматривается сегодня в качестве потенциальной терапевтической мишени для лечения нейродегенеративных заболеваний, в основе патогенеза которых лежит накопление белков вследствие возможного нарушения аутофаго-лизосомного пути. Однако гипер- и гипоактивация активация mTOR может приводить к дисфункции лизосом и последующей гибели клеток. Цель исследования заключалась в оценке дозозависимого влияния ингибирования киназной активности mTOR на параметры клетки, нарушение которых ассоциировано с развитием нейродегенеративного заболевания болезни Паркинсона (БП) на различных клеточных моделях человека *in vitro*.

Активности ферментов (глукocereброзидидаза (GCase), альфа-галактозидаза (GLA), кислая сфингомиелиназа (ASMase)) и концентрации соответствующих сфинголипидов (глоботриаозилсфингозин (LysoGb3), сфингомиелин (LysoSM), гексозилсфингозин (HexSph)) оценивали в трех повторах методом ВЭЖХ–МС/МС, относительный уровень белков, таких как фосфорилированная форма mTOR (S2448), LC3B-II, GCase и различных форм белка альфа-синуклеина (мономерная, фосфорилированная (S129), тетрамерная) оценивались в трех повторах методом вестерн-блот в первичной культуре макрофагов периферической крови, полученных от 6 индивидуумов контрольной группы, и в клеточной линии нейробластомы SH-SY5Y в присутствии ингибитора mTOR — Торин1 в концентрациях 25, 50, 100 и 200 нмоль.

Эффективность ингибирования mTOR Торин1 оценивали по снижению уровня фосфорилированной формы белка mTOR и увеличению уровня основного маркера аутофагии белка LC3B-II. Показано, что концентрация 100 нмоль Торин1 не приводит к изменению активности лизосомных ферментов и концентрации лизосфинголипидов по сравнению с необработанными культурами клеток ($p > 0.05$). Выявлено снижение токсичной фосфорилированной формы белка альфа-синуклеина, наряду с увеличением его стабильной тетрамерной формы при обработке клеточной линии SH-SY5Y Торин1 концентрациями 100, 200 нмоль по сравнению с необработанной культурой ($p < 0.01$). Показано увеличение уровня белка GCase, кодируемого геном *GBA1*, в первичной культуре макрофагов периферической крови контроля и клеточной линии SH-SY5Y в присутствии Торин1 в концентрации 100 нмоль по сравнению с культурами клеток без добавления индуктора. Таким образом, ингибирование протеинкиназы mTOR может быть перспективным подходом для разработки терапии БП, в частности, распространённой формы БП с известной этиологией — *GBA1*-ассоциированной БП.

Исследование поддержано грантом РФФ 24-25-00212.



Оценка роли полиморфных вариантов генов системы метаболизма, транспорта и рецепции основных нейромедиаторов в развитии болезни Паркинсона

А.Ю. Берёзов¹, З.Г. Кокаева¹, Л.Н. Нефёдова¹

¹ Биологический факультет, МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва
al.berezov@gmail.com

Болезнь Паркинсона (БП) — тяжелое нейродегенеративное заболевание, по распространенности в мире занимает второе место после болезни Альцгеймера. В настоящее время этиология БП по-прежнему остается неясной. Согласно современным представлениям, в патогенезе БП участвует дисфункция дофаминергической и других видов нейротрансмиссии. Однако точную роль полиморфных вариантов генов в их регуляции еще предстоит определить.

Цель исследования. Изучение роли полиморфных вариантов генов четырех нейротрансмиттерных систем в развитии болезни Паркинсона: дофаминергической — DBH (rs141116007), DRD2 (rs6277, rs12364283, rs2283265), SLC6A3 (rs2652510), COMT (rs4646315), MAOB (rs1040399), серотонинергической — HTR2A (rs6311), глутаматергической — GRIN2B (rs7301328, rs1806201), опиоидной — OPRK1 (rs702764), OPRM1 (rs677830) у жителей Московского региона.

Материал и методы. Образцы крови 203 пациентов (65,8±8 лет) предоставлены РНИМУ им. Н. И. Пирогова г. Москвы. Группа популяционного контроля — 213 жителей Москвы и Московской области. Выделение ДНК осуществлялось с помощью набора «S-Сорб» (НПК«Синтол»). Анализ аллельного состояния генов проводился с использованием методов: ПЦР-ПДРФ, АС-ПЦР, ПЦР-RealTime.

Результаты. Для ряда замен генов DRD2, SLC6A3, HTR2A, GRIN2B, OPRK1, на основании частот аллелей и генотипов, выявлены статистически значимые ассоциации с болезнью Паркинсона ($p < 0,05$). Для замен в генах GRIN2B, OPRK1 ассоциации с БП были установлены впервые.

Проведенное исследование показало влияние пола на болезнь Паркинсона. По гену GRIN2B риск БП был в 2 раза выше у представителей мужского пола, чем у женского, и выше, чем в общей выборке. Для полиморфных вариантов генов DBH rs141116007, MAOB rs1040399, COMT rs4646315, OPRM1 rs677830 ассоциации с развитием БП не выявлены. Установлены комплексные генотипы, несущие наибольший риск БП.

В работе установлен вклад рецепторов серотонинергической, глутаматергической, опиоидной, рецепторов и транспортёров дофаминергической систем в развитии болезни Паркинсона. Выявление сети комплексных взаимодействий белков, связанных с соответствующими генами и их факторами риска, в дальнейшем будет способствовать разработке действенной терапии разных форм болезни Паркинсона.



Разработка методики для детекции и генотипирования *Mycobacterium tuberculosis* на основе 4WJ ДНК-сенсоров и наночастиц

М.Ю. Березовская¹, М.А. Быковская¹, Д.А. Горбенко¹, М.С. Рубель¹, Д.М. Колпащиков²

¹ Университет ИТМО, Санкт-Петербург 2University of Central Florida, Orlando

berezovskaya@scamt-itmo.ru

Туберкулез является одним из самых распространенных заболеваний как в России, так и во всем мире. Согласно данным ВОЗ, смертность от туберкулеза выше, чем от СПИД, только в 2021 году от него умерло 1,4 миллиона человек. Для своевременного начала терапии необходимы качественные методы диагностики туберкулеза, однако основная проблема диагностики заключается не столько в том, чтобы выявить наличие туберкулеза, но в определении конкретного штамма-возбудителя. *Mycobacterium tuberculosis* склонна к однонуклеотидным полиморфизмам (SNPs), которые приводят к различным видам антибиотикорезистентности. Следовательно, для выбора оптимальной стратегии лечения конкретного пациента необходимо использовать точный способ детекции SNPs. Существующие решения являются доступными, однако имеют число недостатков, таких как продолжительность метода или его дороговизна. В качестве альтернативы устоявшимся методам возможно использование ДНК-сенсоров в совокупности с различными видами визуализации результата.

В данной работе рассмотрены ДНК пробы, образующие перекрестные структуры (4WJ). 4WJ сенсор состоит из SNP-специфичного m-фрагмента, аналит-расплетающего f-фрагмента и универсального молекулярного зонда (UMB) с флуорофором и гасителем флуоресценции на 5' и 3' концах, соответственно. В растворе UMB имеет конформацию шпильки, однако в присутствии анализируемой ДНК зонд приобретает линейную конформацию, увеличивая расстояние между флуорофором и гасителем, позволяя детектировать флуоресцентный сигнал [1]. Классические 4WJ сенсоры подразумевают использование спектрофлуориметра, что требует лишних затрат, в связи с чем было принято решение разработать систему визуальной детекции на основе 4WJ сенсоров и магнитных наночастиц. В данной модификации роль репортерной молекулы выполняет UMB с наночастицей модифицированного магнетита на 5'-конце. В работе использовались наночастицы магнетита, модифицированные олигонуклеотидами методом карбодиимидной сшивки. Реакцию сборки сенсора проводили в течение 15 минут в 50 mM Tris*HCl, 50 mM MgCl₂. Флуоресценцию измеряли с помощью спектрофлуориметра Tecan.

В результате работы была показана возможность детектирования гена *HigA1 Mycobacterium tuberculosis* методом флуоресцентной и визуальной детекции путем агрегации наночастиц. Также была показана возможность выявления однонуклеотидной замены (С-Т) в гене *HigA* методом флуоресцентной детекции и методы оптимизации визуальной системы детекции для увеличения специфичности и чувствительности метода.

[1] Kolpashchikov, D. M. (2010). Binary probes for nucleic acid analysis. *Chemical reviews*, 110(8), 4709–4723.



Genotoxic and epigenetic effects of chrysotile asbestos

R. I. Bersimbay¹, A. Kussainova¹, O. Bulgakova¹

¹ *Eurasian National University, Institute of Cell Biology and Biotechnology, Astana, Kazakhstan*

ribers@mail.ru

Lung cancer is known to be a multifactorial disease based not only on genetic aspects but also on environmental factors. The International Agency for Research on Cancer has identified asbestos one of major carcinogenic risk factors for lung cancer. Prolonged exposure to asbestos dust leads to asbestosis. Asbestosis is a chronic lung disease in which lung tissue is gradually replaced by fibrous tissue as a result of exposure to asbestos fibers. Asbestosis is a form of pulmonary fibrosis and belongs to the class of interstitial lung diseases. Despite the positive trend of a decrease in the number of new cases of lung cancer in the later stages and an increase in the life expectancy of cancer patients, the total number of new cases of lung cancer in the early stages remains very high. Lung diseases associated with asbestos exposure remain an important global health problem. To analyze the effect of asbestos, we conducted a study using the MRC5 cell line. We were able to demonstrate that chrysotile asbestos stimulated the production of reactive oxygen species (ROS), leading to cell death and DNA damage in the MRC5 cell line, using various techniques such as ROS measurement, comet assay and qPCR. The cell sensitivity to asbestos was assessed using MTT assay. Our study in the MRC5 cell line showed that exposure to chrysotile asbestos leads to the production of free radicals ROS, which induce oxidative cellular stress in a dose-dependent manner. This stress, as evidenced by the presence of single- and double-strand breaks in chrysotile-exposed cells, ultimately leads to DNA damage. In addition, apoptosis may be induced in the damaged cells. Our results indicate a decrease in cell viability after incubation with chrysotile asbestos for as little as 24 h. There is also a high concentration of extracellular mitochondrial DNA in the culture medium, indicating apoptotic cell death. In addition, we found that chrysotile asbestos treatment significantly increased extracellular mitochondrial DNA levels in the culture medium and induced significant changes in the expression profile of several microRNAs: hsa-miR-19b-3p, hsa-miR-125b-5p, hsa-miR-181b-5p, hsa-miR-376b-3p, hsa-miR-1202 and hsa-miR-1228. These results call into question the assertion that chrysotile asbestos is safe for human health as this type of fiber has the potential to induce adverse cellular effects at the genotoxic and epigenetic levels.

Возможности использования ДНК-наносенсоров на основе разделенных аптамеров для диагностирования генных и геномных мутаций

Г.А. Бобков¹, М.С. Рубель¹, Е.И. Степченкова²

¹ ИТМО, Санкт-Петербург

² Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербург

bobkov@scamt-itmo.ru

Аптамеры, в составе высокоспецифичных молекулярных зонды, открывают новые возможности для диагностики генетических мутаций а также способствуют расширению функционала существующих методов. В данной работе рассматриваются перспективы использования ДНК-наносенсоров на основе аптамеров в качестве инструмента для выявления генетических изменений.

Современные разработки в области молекулярной биологии, генетики и биоинформатики предоставляют исследователям и сотрудникам здравоохранения большое разнообразие методов и технологий для анализа генных и геномных мутаций, которые часто являются причиной многих заболеваний. Для определения генетических мутаций часто используют такие методы как ПЦР, секвенирование, в том числе нового поколения, флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH) и ДНК-микрочипы. Эти технологии обладают рядом недостатков, что не позволяет их использовать в ежедневной практике в кабинете врача. Альтернативой может стать использование ДНК-наносенсоров, которые, в отличие от микрочипов, способны детектировать генетические изменения без предварительной амплификации исследуемой ДНК.

Вспыхивающие аптамеры — последовательность олигонуклеотидов, которые могут связываться со специфическими молекулами (флуорофорами), приводя к флуоресценции или хемилюминесценции. Раздельные вспыхивающие аптамеры в составе ДНК-наносенсоров, могут связываться с флуорофорами, но только в случае образования комплекса с ДНК анализом без мутаций (Рисунок 1). Флуорофоры в составе таких конструкций светят ярче, чем широко распространенные зонды типа TaqMan или молекулярные маячки, а значит использование таких ДНК-наносенсоров сможет способствовать формированию новых безамплификационных вариантов диагностики.

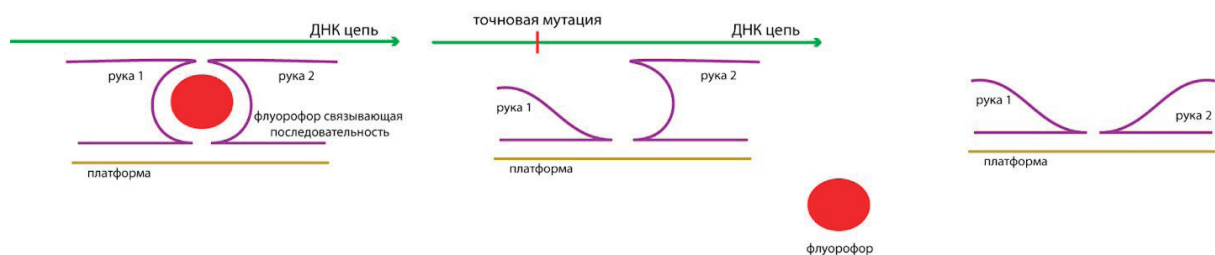


Рисунок 1. Схема взаимодействия раздельного вспыхивающего аптамеров с флуорофором при наличии ДНК анализа без мутации, и отсутствие связывания при наличии мутации или отсутствия анализа.

Данная работа нацелена на возможность использования ДНК-наносенсоров на основе разделенных аптамеров для диагностики генных и геномных мутаций. В данной работе представлен ДНК-наносенсор на основе раздельного вспыхивающего аптамера к дапоксилу, который при связывании с ДНК анализом флуоресцирует при возбуждении на длине 390 нм, и детекции — на длине 505 нм. Продемонстрирована эффективность его работы на модельных синтетических объектах и продуктах амплификации.



Роль полиморфных вариантов генов в развитии преэклампсии и поиск связывающихся с ними микроРНК и днРНК

О. Ю. Бордаева¹, Е. Г. Деревянчук¹, Д. Алсет¹, О. Ю. Бордаева¹

¹ Южный федеральный университет г. Ростов-на-Дону

bordaeva@mail.ru

Введение. Преэклампсия (ПЭ) — это ассоциированное с беременностью гипертоническое расстройство, являющееся ведущей причиной материнской и внутриутробной заболеваемости и смертности во всем мире. ПЭ рассматривается как многофакторное заболевание, при этом роль генетических детерминант матери и плода в патофизиологии ПЭ широко изучена в научной литературе. Однако результаты противоречивы, что может быть объяснено разнообразием популяций. Целью нашего исследования является изучение ассоциации полиморфных вариантов генов ITGB3 (с.1565T > C) и ADD1 (с.1378G > T) с риском ПЭ у женщин Ростовской области и биоинформатический поиск связывающихся с этими генами микроРНК и днРНК.

Материалы и методы. Обследованные женщины Ростовской области были разделены на две группы: с ПЭ (n = 53) и физиологическим течением беременности (n = 128). Генотипирование проводили с помощью ПЦР-РВ с использованием наборов реагентов «ДНК-технология», Россия. Распределение генотипов на соответствие равновесию Харди-Вайнберга проверяли с помощью χ^2 . Оценка ассоциации с ПЭ рассчитана с помощью ОШ с 95% ДИ. Поиск микроРНК и днРНК проводили с помощью MirTarBase, miRDB, TargetScan и LncRNA2Target v3.0.

Результаты. Полиморфные варианты генов ITGB3 (с.1565T > C) и ADD1 (с.1378G > T) были статистически значимо ассоциированы с ПЭ. В результате поиска в базе данных MirTarBase для гена ITGB3 была обнаружена одна микроРНК hsa-let-7a-5p, достоверно связывающаяся с ним по результатам 4 методов валидации. По данным TargetScan данная микроРНК имеет в гене ITGB3 консервативный сайт типа 7mer-m8. Для гена ADD1 микроРНК, связывающихся с таким уровнем валидации, обнаружено не было. Также поиск связывающихся с целевыми генами микроРНК был проведен с помощью miRDB: ген ITGB3 является геном-мишенью hsa-miR-8485 и hsa-miR-6780a-3p; ADD1 — hsa-miR-6742-5p, hsa-miR-1283, hsa-miR-3609, hsa-miR-548ah-5p, hsa-miR-4778-3p. Для обоих генов был выбран target score больше 95/100. По результатам поиска в базе данных LncRNA2Target v3.0, изменение экспрессии гена ITGB3 наблюдалось при нокдауне 24 днРНК; ADD1 дифференциально экспрессируется после нокдауна или сверхэкспрессии 13 днРНК.

Заключение. Показана диагностическая роль полиморфных вариантов генов ITGB3 (с.1565T > C) и ADD1 (с.1378G > T) при ПЭ. Отобранные в ходе исследования некодирующие РНК демонстрируют многообещающие результаты в качестве потенциальных биомаркеров и регуляторов при преэклампсии.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности No FENW-2023–0018.



Генетический анализ формирования риска развития рака лёгкого у некурящих пациентов

В.Ю. Буслаев¹, М.Л. Баканова¹, О.А. Соболева¹

¹ Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН, Кемерово
vladislabus2358@yandex.ru

Рак лёгкого относится к наиболее распространённым онкологическим патологиям. Курение может в несколько раз увеличивать риск развития данного заболевания [1]. В то же время наблюдается существенный рост случаев среди некурящих индивидов. Для изучения данного вопроса целесообразно использовать анализ вклада генетической компоненты с использованием определенных маркеров [2]. В качестве таковых могут использоваться компоненты системы репарации ДНК, антиоксидантной защиты и клеточного цикла. В последнее время активно обсуждается и исследуется возможность использования генов иммунного ответа. В особенности значимый вклад в канцерогенез в области лёгких могут вносить гены провоспалительных цитокинов.

Цель работы: провести комплексный генетический анализ формирования риска развития рака лёгкого у некурящих индивидов.

Материалы и методы: для проведения генетического анализа использовался материал, отобранный от 744 жителей Кемеровской области, не характеризовавшихся употреблением табачных изделий. В ходе исследования использовался материал пациентов с наличием диагноза рак лёгкого, а также от условно здоровых участников эксперимента. Все участники эксперимента заполняли информационное согласие. ДНК выделялась из крови стандартным методом фенол-хлороформной экстракции. Для проведения генетического анализа были использованы полиморфные варианты генов репарации ДНК (*XRCC1* rs25489, *hOGG1* rs1052133, *XPB* rs13181, *XPG* rs17655, *XPC* rs2228001, *ADPRT* rs1136410, *NBS* rs2735383, *XRCC3* rs861539, *XRCC2* rs 143153871), клеточного цикла (*TP53* rs1042522), метаболизма (*MTR* rs1805087, *MTHFR* rs1801133), антиоксидантной защиты (*SO2* rs4880, *GPx* rs1050450), а также провоспалительных цитокинов (*TNF* rs1800629, *IL6* rs1800795). Детекция полиморфных вариантов осуществлялась с использованием полимеразной цепной реакции в режиме реального времени на амплификаторе CFX-96 Bio-Rad. Статистический анализ полученных результатов проводился с использованием пакета программы SNPStats. Распределение частот генотипов в группах сравнения соответствовало равновесию Харди-Вайнберга.

Результаты: генетический анализ позволил идентифицировать рисковые генотипы для группы некурящих пациентов. Относительно полиморфного варианта *XPG* rs17655 генотип G/G был определен в качестве рискового при анализе кодоминантной модели (OR = 1.89, 1.13–3.14). При анализе полиморфного варианта *MTHFR* rs1801133 T/T-генотип был определен как рисковый для кодоминантной модели наследования (OR=2.88, 1.35–6.16). Для *XRCC1* rs25489 гетерозиготный G/A генотип был идентифицирован как рисковый в кодоминантной и сверхдоминантных моделях наследования (OR = 2.02, 1.29–3.17 и OR = 2.01, 1.28–3.14, соответственно).

[1] Tobacco smoking after diagnosis of cancer: clinical aspects/ J. Jaccem [et.al] // Translational Lung Cancer Research. — 2019. — N. 1. — P.50–58.

[2] Mutational signatures associated with tobacco smoking in human cancer/ L. B. Alexandrov [et al.] // Science.-2016.-N.6312.-P.618–622.

Исследование выполнено за счёт гранта молодежной лаборатории онкогеномики ФИЦ УУХ СО РАН в связи с постановлением Правительства Кемеровской области-Кузбасса от 19.09.2022 № 623.



Уровни транскриптов генов *ROR γ* и *FOXP3* в ЛПК пациентов с разными формами НАЖБП

А.В. Васильева¹, И.В. Курбатова¹, Л.В. Топчиева¹, О.П. Дуданова², А.А. Шиповская¹

¹ Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск

² Петрозаводский государственный университет, Петрозаводск

kennard@inbox.ru

Неалкогольная жировая болезнь печени (НАЖБП) поражает от 25% до 30% взрослых жителей развитых стран и характеризуется накоплением жира в гепатоцитах при отсутствии алкогольных, лекарственных или инфекционных причин ожирения печени. Поиск новых малоинвазивных биомаркеров является одной из ключевых проблем диагностики и прогноза НАЖБП. Исследования показывают, что Т-хелперы (Th) 17 и регуляторные Т-клетки (Treg) играют важную роль в развитии и прогрессировании НАЖБП (Tang et al., 2011). *ROR γ* кодируется геном *RORC* (*ROR γ*) и в основном экспрессируется в иммунных Th17 клетках. *FOXP3*, член семейства белков FOX, действует как один из главных регуляторов пути развития и функционирования регуляторных Т-клеток. Данных литературы об уровне транскриптов генов *ROR γ* и *FOXP3* в лейкоцитах периферической крови (ЛПК) пациентов с различными формами НАЖБП недостаточно.

Цель исследования — сравнительный анализ уровней транскриптов генов *ROR γ* и *FOXP3* в ЛПК пациентов с разными формами НАЖБП: стеатозом печени (СП), неалкогольным стеатогепатитом слабой (НАСГ-СА), умеренной (НАСГ-УА) и высокой активности (НАСГ-ВА). Обследованы 85 пациентов с НАЖБП, из них 26 с СП, 30 пациентов с НАСГ-СА, 18 пациентов с НАСГ-УА и 13 пациентов с НАСГ-ВА; контрольную группу составили 32 здоровых донора. Уровень транскриптов генов *ROR γ* и *FOXP3* в ЛПК оценивали методом ПЦР в режиме реального времени на приборе LightCycler 96 («Roche», Швейцария), используя набор для амплификации с интеркалирующим красителем SYBR Green («Евроген», Россия). Уровень транскрипции изучаемых генов рассчитан относительно уровня транскрипции гена *18S RNA*. При сравнении уровня транскриптов гена *ROR γ* в ЛПК доноров разных групп, не было выявлено различий. Медиана в группе здоровых доноров составила 3,63E-05 отн. ед., у пациентов СП 1,23E-04 отн. ед., в группе НАСГ-СА 2,36E-05 отн. ед., в группе НАСГ-УА — 1,05E-05 отн. ед., в группе НАСГ-ВА 1,76E-05 отн. ед.

Установлено, что уровень транскриптов гена *FOXP3* в группе НАСГ-СА (медиана — 9,37E-06 отн. ед.) ниже, чем в группе пациентов со стеатозом печени (медиана — 1,79E-05 отн. ед.). При проведении корреляционного анализа по Спирмену, выявлена сильная положительная статистически значимая ($p < 0.05$) корреляция между уровнями транскриптов генов *ROR γ* и *FOXP3* в ЛПК доноров всех групп пациентов (в группе СП $r = 0,93$, в группе НАСГ-СА $r = 0,92$, в группе НАСГ-УА $r = 0,86$, в группе НАСГ-ВА $r = 0,80$ и в контроле ($r = 0,91$). Обнаружена отрицательная корреляция между уровнем триглицеридов и уровнем экспрессии гена *FOXP3* у пациентов со стеатозом печени ($r = -0,64$, $p = 0,021$) и НАСГ-СА ($r = -0,58$, $p = 0,036$). Обнаружена корреляция между уровнем триглицеридов и уровнем экспрессии гена *ROR γ* у пациентов НАСГ-СА ($r = -0,57$, $p = 0,016$).

Выводы. 1. Выявлены достоверные различия в уровне транскриптов гена *FOXP3* в ЛПК пациентов с ранними формами НАЖБП. Уровень транскриптов гена *FOXP3* в ЛПК пациентов с неалкогольным стеатогепатитом слабой активности ниже, чем в группе пациентов со стеатозом печени. Таким образом, воспаление при прогрессировании СП в НАСГ может быть связано со снижением функциональной активности или количества Treg-клеток.

2. У пациентов с ранними формами НАЖБП (СП и НАСГ-СА) отрицательно коррелируют концентрация триглицеридов в крови и уровень мРНК генов *ROR γ* и *FOXP3* в ЛПК.

3. Установлена сильная положительная корреляция между уровнями транскриптов генов *ROR γ* и *FOXP3* в ЛПК здоровых людей и пациентов с НАЖБП.

Работа выполнена в рамках государственного задания по теме № FMEN-2022-0009 (№ гос. регистрации 122031100064–4) на оборудовании ЦКП КарНЦ РАН.



Изучение прионов и амилоидов с помощью дрожжевой модели

М.Е. Велижанина^{1, 2}, А.Е. Зобнина¹, Ю.В. Андрейчук¹, У.Н. Солодухина¹, Ю.В. Сопова¹, А.А. Рубель¹

¹ СПбГУ, Санкт-Петербург

² Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург
velizhanina.me@gmail.com

Амилоиды — это белковые агрегаты фибриллярной природы, формирующие межмолекулярные кросс-β-слои. Накопление амилоидных белков в тканях связано с развитием целого ряда социально значимых неизлечимых болезней человека и животных, таких как болезнь Альцгеймера, Паркинсона и других. В особую группу выделяют инфекционные формы амилоидов, называемые прионами, способные передаваться между организмами, вызывая смертельные заболевания, такие как скрепи у овец, Куру, болезнь Крейтцфельда-Якоба у человека и др.

Одним из наиболее удобных модельных объектов для изучения амилоидов и прионов являются дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Исследования показали, что при продукции амилоидогенных белков млекопитающих в дрожжах формируются агрегаты, которые, в большинстве случаев, сходны по биофизическим и биохимическим характеристикам с агрегатами, выявляемыми у больных млекопитающих. Гетерологичные агрегаты, как правило, не токсичны для клеток дрожжей, но при этом не проявляют собственного фенотипического эффекта.

В нашей лаборатории для фенотипической детекции амилоидной агрегации белков разработана дрожжевая тест-система, в которой в качестве репортера используется N-домен дрожжевого белка Sup35 — фактора терминации трансляции eRF3. Эта тест-система позволяет оценить амилоидогенный потенциал белков млекопитающих по эффективности индукции роста дрожжевых колоний на селективных средах [1]. Используя данную тест-систему, нами ведётся масштабный поиск новых амилоидогенных белков и пептидов. Кроме того, проводится поиск мутаций, усиливающих или блокирующих амилоидную агрегацию известных белков. В частности, нами впервые выявлены мутации, которые предотвращают агрегацию мышинового белка PrP, а также новые мутации, ранее не описанные в литературе и потенциально связанные с развитием наследственных форм прионных заболеваний.

[1] Chandramowlishwaran et al. Mammalian amyloidogenic proteins promote prion nucleation in yeast // J Biol Chem. 2018 293(9):3436–3450. doi:10.1074/jbc.M117.809004.

Работа выполнена при поддержке СПбГУ (проект № 95444727). В работе использовали приборную базу РЦ «РМиКТ» Научного парка СПбГУ.



Ассоциация полиморфных локусов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* с фармакорезистентностью пациентов с шизофренией

Т. С. Голубева¹, Т. В. Докукина¹, И. М. Голоенко^{2, 1}, В. Г. Объедков¹, Н. Ф. Гребень¹, Г. В. Сергеев³,
О. С. Бокуть³

¹ Республиканский научно-практический центр психического здоровья, Минск

² Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск ЗИИ институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск
goloenkoi@tut.by

Введение. Антипсихотическая терапия не достигает ожидаемого клинического эффекта у пациентов с шизофренией в 20–50% случаев. Это клиническое проявление, хроническое и в высокой степени инвалидизирующее, известно как фармакорезистентная шизофрения. Благодаря GWAS установлено, что общие генетические варианты дифференцированно связаны с резистентной к терапии шизофренией. Проведение фармакогенетического тестирования может, в ряде случаев, способствовать принятию клинически значимых решений о выборе лечения антипсихотическими препаратами отдельных пациентов.

Цель и задачи. Целью работы было исследование связи полиморфных локусов *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3* с фармакорезистентностью пациентов с шизофренией.

Материалы и методы. В исследование включено 162 пациента с шизофренией в возрасте от 18 до 60 лет. Средний возраст пациентов: $38,8 \pm 0,9$ лет. Генотипирование проводилось по полиморфным локусам *CYP2C9*2* и *CYP2C9*3*. Оценивали связь частоты встречаемости исследуемых локусов с наличием фармакорезистентности, побочных эффектов от применения психотропных лекарственных средств и их дозы.

Основные результаты. Анализ частот встречаемости генотипов и аллелей не выявил различий между группами пациентов, отвечающих на лекарственную терапию и пациентов с фармакорезистентностью. Достоверные и близкие к достоверным различия обнаружены по встречаемости генотипов полиморфных локусов генов *CC* (*CYP2C9*2*) ($\chi^2 = 3,60$; $p = 0,058$) и *AC* (*CYP2C9*3*), ($\chi^2 = 5,81$; $p = 0,016$) для пациентов женского пола с и без фармакорезистентности. При наличии побочных эффектов и в зависимости от дозы антипсихотического лекарственного средства, данная связь с полиморфными локусами гена *CYP2C9* оказалась более выраженной. У носителей генотипа *AC* (*CYP2C9*3*) женского пола, имеющих побочные эффекты, фармакорезистентность встречалась достоверно чаще ($\chi^2 = 8,18$; $p = 0,004$), как и в зависимости от дозы антипсихотического лекарственного средства: *AC* (*CYP2C9*3*) ($\chi^2 = 4,41$; $p = 0,036$) и *CC* (*CYP2C9*2*) ($\chi^2 = 6,38$; $p = 0,012$).

Выводы. Таким образом, нами выявлена достоверная связь полиморфных локусов *2 и *3 гена *CYP2C9* с риском развития фармакорезистентности у пациентов с шизофренией. Полученные данные важны для поиска надежных генетических маркеров фармакогенетического тестирования для повышения эффективности и безопасности терапии психических расстройств и проведения терапевтического лекарственного мониторинга.



Экспрессия генов *DRD1* и *HRH1* в патогенезе расстройств шизофренического спектра и прогнозе антипсихотической терапии

М.Н. Грунина¹, А.М. Заботина^{1,2}, Е.М. Крупицкий³, А.Е. Тараскина^{1,2}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина

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

³ Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и неврологии им. В.М. Бехтерева,
Санкт-Петербург
by2306@mail.ru

Исследование направлено на определение маркеров диагностики расстройств шизофренического спектра (РШС) и прогноза ответа на лечение антипсихотическими препаратами (АП). Считается, что основным механизмом в развитии шизофрении является нарушение нейротрансмиттерных систем (дофаминергической, гистаминовой) в центральной нервной системе [1]. Гены рецепторов дофамина D1 и гистамина H1 могут быть связаны с развитием симптомов шизофрении [2, 3] и возникновением нежелательных реакций при приеме АП [4]. Так как мононуклеары периферической крови (МКПК) экспрессируют рецепторы биогенных аминов, подвержены действию АП, а их рецепторный профиль в целом совпадает с профилем нейронов, их рассматривают как адекватный инструмент контроля антипсихотической фармакокоррекции [5].

Цель состояла в оценке уровней мРНК генов *DRD1* и *HRH1* как возможного маркера развития РШС и ответа на терапию (эффективность и безопасность) в МКПК пациентов с РШС до начала и через 28 дней терапии, а также в контрольной группе.

В исследование включено 112 пациентов с диагнозом РШС и первым психотическим эпизодом, получавшие монотерапию галоперидолом или оланзапином в течение 28 дней, а также 40 здоровых лиц группы сравнения. Показатели оценивали до и после начала лечения. Относительный уровень мРНК определяли методом ПЦР в реальном времени. Эффективность лечения оценивали по шкале PANSS. В качестве побочных реакций оценивали антипсихотик-индуцированный набор веса (более 7% от начальной массы тела) и экстрапирамидные симптомы (шкала SAS).

Уровень мРНК гена *DRD1* в группе пациентов с РШС до терапии понижен по сравнению с контрольной группой (1,99 (0,49 ÷ 4,05) и 3,26 (1,61 ÷ 5,27), соответственно, $p = 0,014$). Уровень мРНК гена *HRH1* до начала лечения повышен по сравнению с контрольной группой (2,08 (0,18 ÷ 5,76) и 0,7 (0,29 ÷ 1,5), соответственно, $p = 0,005$). Терапия АП не оказывала влияния на относительный уровень мРНК генов *DRD1* и *HRH1*. Эффективная терапия оланзапином ассоциирована с пониженным базовым уровнем мРНК гена *DRD1*.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 1023031500037–7–1.6.8;1.6.1;1.6.2;1.6.3 Изучение молекулярных и клеточных компонентов патогенеза социально-значимых заболеваний для разработки методов ранней диагностики и лечения).

- [1] Lai C. Y. et al. Biomarkers in schizophrenia: A focus on blood based diagnostics and theranostics // World J Psychiatry. 2016. V.6(1). P. 102–17.
- [2] Wu S. et al. Histamine H1 Receptor in Basal Forebrain Cholinergic Circuit: A Novel Target for the Negative Symptoms of Schizophrenia? Neurosci.Bull. 2022. V.38. P. 558–560.
- [3] Stenkrona P. et al. D1-Dopamine Receptor Availability in First-Episode Neuroleptic Naive Psychosis Patients. // Int J Neuropsychopharmacol. 2019. V.22(7). P. 415–425
- [4] Vehof J. et al. Association of genetic variants of the histamine H1 and muscarinic M3 receptors with BMI and HbA1c values in patients on antipsychotic medication. Psychopharmacology (Berl). 2011. V.216. N2. P. 257–265.
- [5] Buttarelli F. R. et al. The Dopaminergic System in Peripheral Blood Lymphocytes: From Physiology to Pharmacology and Potential Applications to Neuropsychiatric Disorders // Current Neuropharmacology. 2011. N9. P. 278–288.



Функциональные полиморфизмы генов оксидативного стресса и репарации как биомаркеры риска развития РМЖ

П.М. Джамбетова¹, З.И. Бисултанова¹

¹ Чеченский государственный университет им. А.А. Кадырова
petimat-ig@rambler.ru

Рак молочной железы (РМЖ) имеет самую высокую заболеваемость и смертность женщин в мире. Предрасполагающие к РМЖ мутации в популяциях неравномерны, и каждая этническая группа происходит от своего собственного пула предков, которые были носителями уникальных аллелей, связанных с заболеванием. Исследован вклад из однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП) генов репарации ДНК (XRCC1: rs1799782, rs25487, ERCC2: rs13181, rs1799793) и оксидативного стресса (CAT: rs4756146, rs2284365) в модуляции РМЖ у 124 женщин с РМЖ и 311 здоровых женщин чеченской популяции. Поиск ассоциативных связей не выявил значимого эффекта риска развития РМЖ отдельных изученных полиморфизмов. Анализ совместного влияния однонуклеотидных полиморфизмов Asp312Asn/Lys751Gln XPD и XRCC1 Arg194Trp + Gln399Arg выявил значимый эффект ($p = 0,017$) комбинации ОНП XPD Asp312Asn и ОНП XPD G751T (ОШ = 2,14, ДИ_{1,16-3,95}), который усиливается при сочетании с XRCC1 Arg399Gln-Arg194Trp (T/C + G/G) и XPD Lys751Gln и Asp312Asn (G/G + TC) ОШ = 2,65 ДИ 1,12-6,28 ($p = 0,029$). Таким образом, анализ совместного носительства аллелей/генотипов исследованных полиморфных участков выявил позитивно ассоциированные с РМЖ комбинации полиморфизмов генов репарации XRCC1 и XPD. Сочетание двух гаплотипов XRCC1 Arg399Gln-Arg194Trp (T/C+G/G) и XPD Lys751Gln, и Asp312Asn (G/G +TC) может быть маркером риска РМЖ. Унаследованные генетические варианты составляют относительно небольшую долю всех случаев РМЖ (4-5%), и у большинства женщин с РМЖ нет патогенного варианта в активном гене и поиск значимых полиморфизмов имеет важное значение. Показано, что индивидуальные варианты предрасположенности к РМЖ приводят к небольшому увеличению риска [1], но их комбинации могут значительно увеличить риски. Очевидно, что популяции различаются по частоте, степени и характеру их связи с развитием заболевания. Однако наблюдаются значительные различия между различными популяциями, что делает обязательным проведение исследований такого рода для выявления «маркеров, специфичных для популяции».

- [1] Бисултанова З. И., Ацаева М. М., Джамбетова П. М. Роль полиморфных вариантов генов SOD2, GSTT1, GSTM1 и GSTP1 в развитии рака молочной железы у женщин чеченской популяции // Вестник Самарского университета. Естественная серия. 2016; 1(2):85-91.



Разработка противовирусных средств нового поколения для защиты от респираторных вирусных инфекций на платформе прикладной электровирусологии

Л.А. Джапаридзе¹, С.Б. Оникиенко¹

¹ Санкт-Петербургский Научный Центр РАН, Санкт-Петербург

ljap@spbrc.nw.ru

Взаимодействие положительно заряженных белков шипов тельно заряженными рецепторами клеточ-мишеней способствует проникновению в клетки этих вирусов. Повышение заразности SARS-COV-2 обусловлено увеличением электрического заряда белка шипов коронавируса за счет вставок из положительно заряженных аминокислот лизина, аргинина, гистидина [1]. У штамма Омикрон и его сверхзаразного варианта Кракен этот заряд в 5–6 раз выше, чем у других штаммов. Электростатическое взаимодействие положительно заряженных белков коронавирусов с отрицательно заряженными АПФ-2 рецепторами вызывает адгезию и слияние вирусов с клетками хозяина за счет взаимного притяжения противоположных электрических зарядов [2], что способствует «ускользанию» вируса от антител и снижает эффективность вакцинации. Положительно заряженные участки на поверхности вирусов являются мишенями для разработки безопасных для человека электрически заряженных противовирусных средств нового поколения на основе использования специальных электрически заряженных веществ. Для решения этой задачи могут быть использованы положительно заряженные микроэлементы в низкой степени окисления, пригодные для интраназального и ингаляционного применения, положительно заряженные катионные лецитиновые липосомы, акцепторы электронов (антиредуктанты), которые подавляют электростатическое взаимодействие вирусов с клеткой путем нейтрализации зарядов на ее поверхности [3].

- [1] Куприянов С. В. Новая коронавирусная инфекция. Сегодняшний взгляд на пандемию / Куприянов С. В. и др. // Acta Medica Eurasica. — 2021. № 3. — С. 48–59. DOI: 10.47026/2413-4864-2021-3-48-59.
- [2] Pawłowski P. *Hi*. Charged amino acids may promote coronavirus SARS-CoV-2 fusion with the host cell // AIMS Biophysics. — 2021. — v.8.) P. 111–120. doi: 10.3934/biophy.2021008.
- [3] Оникиенко С. Б. и соавт. Прикладная электровирусология-новая платформа для создания средств защиты от сверхзаразных штаммов SARS-Cov-2 и вируса гриппа // Журнал инфектологии. — 2023. — Т. 15.(приложение 2) –№ 2. — С. 94.



Влияние экстраклеточных везикул жировой ткани на экспрессию генов обратного транспорта холестерина в макрофагах человека

К.В. Драчева^{1,2}, И.А. Побожева^{1,2}, К.А. Анисимова², М.Н. Грунина¹, З.М. Хамид², С.Г.Баландов²,
Д.И. Василевский², С.Н. Пчелина^{1,2}, В.В. Мирошникова^{1,2}

¹ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, НИЦ «Курчатовский институт», Гатчина

² Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова
Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург

fatal-ks@mail.ru

Введение. Ожирение является фактором риска развития сахарного диабета 2 типа (СД2), сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) и др. Важным звеном патогенеза сопутствующих патологий при ожирении могут быть экстраклеточные везикулы (ЭВ, экзосомы) жировой ткани (ЖТ). ЭВ осуществляют межклеточную коммуникацию, перенося различные белки, липиды, мРНК, микроРНК. Известно, что ЭВ обогащены холестерином (ХС) по сравнению с секретирующей их клеткой. Состав и биогенез ЭВ может изменяться при ожирении, в частности может увеличиваться количество секретируемых ЭВ. Мы предположили, что при ожирении и СД2 секретируемые ЖТ ЭВ могут влиять на накопление ХС макрофагами интимы артерий, способствуя прогрессированию атеросклероза и ССЗ.

Цель исследования. Изучить эффекты ЭВ подкожной (ПЖТ) и висцеральной (ВЖТ) ЖТ пациентов с ожирением и СД2 на экспрессию генов обратного транспорта холестерина в макрофагах человека.

Материалы и методы. В исследовании использовались ЭВ, полученные при культивировании ПЖТ и ВЖТ пациентов: 1) с ожирением и СД2 (n = 26), 2) с ожирением без СД2 (n = 27), 3) без ожирения (n = 15). ЭВ ЖТ были охарактеризованы методом вестерн-блот на специфические маркеры ЖТ, а также маркеры ЭВ. В образцах ЭВ оценивалось содержание холестерина (Amplex Red Cholesterol Assay Kit (Invitrogen)). Макрофаги, полученные при дифференцировке моноцитов периферической крови здоровых доноров течением 5 суток, дополнительно культивировали в присутствии ЭВ ЖТ в течение 24 часов. Уровень мРНК генов *ABCA1*, *ABCG1*, *LXRβ* (*NR1H2*), *LXRα* (*NR1H3*) и *PPARG* в макрофагах оценивали методом ПЦР в реальном времени, уровень белка — методом вестерн-блот.

Результаты. Показано, что ЭВ ВЖТ отличаются повышенным содержанием ХС по сравнению с ЭВ ПЖТ. Уровень экспрессии гена транспортера холестерина *ABCG1* в макрофагах повышался при инкубации как с ЭВ ВЖТ, так и ПЖТ пациентов с ожирением и СД2, что было подтверждено вестерн-блот анализом. В то же время уровень мРНК гена *NR1H3* (*LXRα*) снижался. Уровень мРНК генов *ABCA1* и *NR1H2* (*LXRβ*) повышался при добавлении большинства типов экзосом, включая ЭВ контрольной группы. Уровень мРНК гена *PPARG* снижался при добавлении ЭВ ВЖТ пациентов с ожирением без СД2 и любых ЭВ пациентов с СД2. Для *PPARG*, *LXR*s корреляции между уровнем мРНК и белка в макрофагах не выявлено, в то же время было показано содержание белков *PPARγ* и *LXR*s в экзосомах ЖТ.

Выводы. ЭВ, секретируемые ПЖТ и ВЖТ при ожирении и СД2, модулируют экспрессию генов метаболизма холестерина в макрофагах человека.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 1023031500037–7–1.6.8;1.6.1;1.6.2;1.6.3 Изучение молекулярных и клеточных компонентов патогенеза социально-значимых заболеваний для разработки методов ранней диагностики и лечения).



Роль полиморфизма rs5760492 гена гамма-глутамилтрансферазы 1 в развитии инфаркта мозга

Е.Л. Дроздова¹, М.А. Солодилова¹, А.А. Полоникова¹

¹ Курский государственный медицинский университет, Курск
drozdovael@kursksmu.net

Актуальность. По данным ВОЗ цереброваскулярные заболевания в мире являются наиболее частой причиной смерти, а среди выживших значительная доля пациентов, частично или полностью утративших трудоспособность и самостоятельность в повседневной жизни [1]. Увеличение распространенности, смертности от инфаркта мозга, высокий уровень инвалидизации требуют как совершенствования имеющихся методов диагностики и лечения, так и профилактики ишемического инсульта (ИИ) с учетом всех факторов риска. В связи со значимостью окислительного стресса в патогенезе ИИ, целесообразным является изучение состояния молекулярно-генетических механизмов регуляции редокс-гомеостаза и, в частности, метаболизма глутатиона [2]. В этом контексте особый интерес привлекают гены ферментов, вовлеченных в метаболизм глутатиона, которые потенциально могут влиять на его синтез [3]. Известно, что поступление аминокислот-предшественников глутатиона регулируется мембран-ассоциированными ферментами, одним из которых является гамма-глутамилтрансфераза. До настоящего времени исследований ассоциации полиморфного варианта rs5760492 гена гамма-глутамилтрансферазы 1 (*GGT1*) с риском развития ИИ не проводилось ни в России, ни за рубежом.

Цель исследования: Исследовать ассоциации функционально значимого полиморфизма rs5760492 гена *GGT1* с развития ишемического инсульта и провести функциональное аннотирование с использованием данных портала eQTLGen.

Материалы и методы исследования. В ходе исследования было обследовано 600 пациентов, находившихся на лечении в неврологическом отделении РСЦ КОМКБ (330 мужчин — 55% и 270 женщин — 45%). Возраст пациентов составлял $61,09 \pm 9,77$ лет. В контрольную группу были включены образцы ДНК относительно здоровых лиц из биобанка НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии КГМУ в количестве 688 образцов (366 мужчин и 322 женщины — 53,2% и 46,8% соответственно), средний возраст которых составил $60,84 \pm 7,45$ лет. От всех участников исследования было получено добровольное информированное согласие. Генотипирование проводилось с помощью ПЦР в режиме реального времени с дискриминацией аллелей с помощью TaqMan-зондов. Оценка производилась на соответствие равновесию Харди-Вайнберга. Функциональное аннотирование полиморфизма гена *GGT1* проводилось с использованием данных портала eQTLGen.

Результаты: Частоты генотипов соответствовали ожидаемым значениям при равновесии Харди-Вайнберга ($P > 0.05$). Частота аллеля G в контрольной группе составляла 0.697, у пациентов с ишемическим инсультом — 0.649 (OR = 1.24, 95% CI 1.01–1.53, $P = 0.05$). Также было установлено, что генотип rs5760492-G/A ассоциирован с повышенным риском развития ИИ (OR = 1.37, 95% CI 1.02–1.84, $P = 0.039$).

Нами было проведено функциональное аннотирование полиморфизма rs5760492 гена *GGT1* с использованием данных портала eQTLGen. Установлено, что полиморфизм rs5760492 статистически значимо был ассоциирован с пониженной экспрессией генов *FAM211B* ($p = 2.2635 \times 10^{-79}$), *BCRP3* ($p = 7.7179 \times 10^{-49}$), *SGSM1* ($p = 0.0000038783$). Ген *FAM211B* кодирует белок, участвующий в регуляции транскрипции и взаимодействующий с белками, которые осуществляют аутофагию. Ген *SGSM1* кодирует модулятор передачи сигналов малого G-белка 1, участвующего в активации группы гидролазных ферментов и внутриклеточном транспорте белков, что может приводить к нарушению в системе редокс-гомеостаза. Ген *BCRP3* является псевдогеном, ассоциированным с раком легким.

Выводы: В результате проведенного исследования впервые установлено вклад полиморфного варианта rs5760492 гена *GGT1* в развитии инфаркта мозга. Гетерозиготный вариант rs5760492 гена *GGT1* ассоциирован с высоким риском развития ишемического инсульта.



Транскриптомный анализ единичных клеток эмбрионидных теллец человека

Д. И. Жигалина¹, Т. Н. Киреева¹, Т. В. Никитина¹, С. Н. Государкина¹, Т. С. Геращенко²,
А. А. Хозяинова², М. Е. Меняйло², А. А. Фролова², А. А. Щеголева², М. С. Третьякова², Е. В. Денисов²,
Н. А. Скрыбин¹

¹ НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ РАН, Томск, РФ

² НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН, Томск, РФ

dasha_150291@mail.ru

Для адекватной интерпретации результатов исследований, получаемых с помощью модельных систем, напоминающих по строению и свойствам эмбрион человека, необходимо понимать, какими свойствами они обладают. Целью данного исследования являлся анализ типов клеток, представленных в эмбрионидных тельцах (ЭТ), с помощью полнотранскриптомного секвенирования единичных клеток.

Анализ ЭТ, полученных из индуцированных стволовых клеток (ИПСК) здорового индивида (K7-4LF), проводился с помощью технологии 10x Genomics' single cell RNA-seq, the Chromium Single Cell 3' solution.

По результатам анализа профилей экспрессии отдельных кластеров с помощью веб-ресурсов, а также с использованием литературных данных (1-2), были выделены следующие типы клеток: внутренняя клеточная масса, клетки раннего эпибласта, клетки эпибласта, клетки первичной полоски, энтодермальные предшественники, клетки боковой пластинчатой мезодермы, мезензимальные стволовые клетки, клетки нейральной эктодермы, клетки границы нервной пластинки, клетки нервного гребня, нейроэпителиальные клетки, каудальные астроглиоподобные клетки (характерны для ЭТ), клетки-предшественники нейронов, клетки-предшественники астроцитов, клетки нервной трубки. Инструмент RNA velocity позволил оценить соотношение сплайсированной и несплайсированной мРНК в клетках. Большой процент несплайсированной мРНК указывал на активно протекающий процесс клеточной дифференцировки в ЭТ.

Таким образом, в ЭТ присутствуют все основные клеточные линии, характерные для эмбриона человека на этапах бластоцисты и гастрюлы. ЭТ могут быть использованы в качестве модельной системы для изучения дифференциальной экспрессии генов в различных тканях.

1. Han X., Zhou Z., Fei L. et al. Construction of a human cell landscape at single-cell level // Nature. — 2020. — V. 581. — № 7808. — P. 303–309.
2. Zeng B., Liu Z., Lu Y. et al. The single-cell and spatial transcriptional landscape of human gastrulation and early brain development // Cell Stem Cell. — 2023. — V. 30. — № 6. — P. 851–866.



Динамика накопления мутаций в геноме раковых клеток больных множественной миеломой

А.С. Жук^{1,2}, А.Ю. Аксенова², Е.И. Степченкова^{2,3}, А.Д. Гарифуллин⁴, И.И. Кострома⁴, С.В. Грицаев⁴

¹ Университет ИТМО, Санкт-Петербург

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

³ Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербург

⁴ Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России, Санкт-Петербург

ania.zhuk@gmail.com

Множественная миелома (ММ) представляет собой неизлечимое онкогематологическое заболевание, которое характеризуется гиперпролиферацией плазматических клеток, производящих моноклональные иммуноглобулины. Злокачественные плазматические клетки проходят сложный процесс клональной эволюции, сопровождающийся накоплением множества точковых мутаций и хромосомных перестроек. Опухоль на момент постановки диагноза может состоять из нескольких субклонов, которые продолжают изменяться в ходе прогрессирования заболевания и лечения. Высокая степень гетерогенности ММ усложняет лечение больных. Актуальной задачей является поиск факторов, контролирующих мутагенез в геноме раковых клеток при ММ на разных стадиях течения болезни и на фоне лечения. Подобные исследования стали возможны благодаря развитию технологий высокопроизводительного секвенирования.

Цель данного исследования заключается в изучении динамики генетических изменений, ассоциированных с развитием ММ, на фоне проводимой терапии. Для достижения поставленной цели мы провели экзомное секвенирование нормальных лимфоцитов крови и раковых плазматических клеток CD138+, полученных от больных ММ в дебюте заболевания и на различных этапах терапии. В результате анализа данных секвенирования были обнаружены наследуемые варианты, ассоциированные с предрасположенностью к ММ и чувствительностью к лекарственным препаратам, а также разнообразные нарушения в генах, обеспечивающих контроль стабильности генома. Исследование соматических изменений показало наличие мутаций и структурных вариаций в генах, которые играют важную роль в прогрессировании, ответе на лечение и исходе ММ. Были найдены генетические изменения, которое связывают с высоким риском и неблагоприятным прогнозом течения заболевания. Для более глубокого изучения влияния различных патологических процессов на изменения в геномах опухолевых клеток были проведены исследования мутационных подписей.

Изучение динамики накопления мутаций при ММ важно для стратификации пациентов по группам риска и для подбора оптимальных схем лечения.

При поддержке гранта РФФ 20-15-00081.



Изучение взаимосвязи вариантов гена *SNCA* и уровня мРНК его сплайсинг изоформ на активность лизосомных ферментов у пациентов с синуклеинопатиями в клетках периферической крови

А.С. Журавлев^{1, 2}, А.О. Лавринова¹, В.Н. Пидюрчина¹, Х. Фаюд¹, Е.А. Белых¹, И.В. Милюхина^{1, 2, 3},
О.А. Беркович², А.К. Емельянов^{1, 2}, С.Н. Пчелина^{1, 2}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина

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

³ Институт мозга человека им. Н.П. Бехтеревой РАН, Санкт-Петербург

rigold988@mail.ru

Синуклеинопатии представляют собой группу нейродегенеративных заболеваний, характеризующихся накоплением агрегатов альфа-синуклеина, в селективных популяциях нейронов и клеток глии. У человека описано существование четырех изоформ белка α -синуклеина (*SNCA*) (*SNCA140*, *SNCA126*, *SNCA112*, *SNCA98*) с различной способностью к агрегации [1]. Предполагается, что однонуклеотидные полиморфные варианты (ОНВ) гена *SNCA* могут влиять на уровень его экспрессии, включая его сплайсинг изоформу *SNCA112*, у пациентов с БП [2].

Целью работы являлась оценка ассоциации вариантов гена *SNCA* (*rs3756063* (C/G), *rs356219* (A/G), *rs11931074* (G/T), *rs356168* (A/G)) с риском развития синуклеинопатий и их влияние на уровень мРНК его сплайсинг изоформ (*SNCA140*, *SNCA126*, *SNCA112*) у пациентов с синуклеинопатиями в лимфоцитах периферической крови (ЛПК). Исследование включало 636 пациента с синуклеинопатиями (80 МСА, 39 ДТЛ, 43 БПД и 474 БП) и 383 индивидуума контрольной группы. Идентификацию ОНВ проводили методом ПЦР-рестрикционного анализа. С использованием РТ-ПЦР был оценен уровень мРНК *SNCA140*, *SNCA126*, *SNCA112* в ЛПК указанных групп.

Была показана ассоциация ОНВ *rs11931074* с риском развития МСА (OR = 0,48 [95%CI: 0,27–0,86], $p = 0,013$), ДТЛ (OR = 0,47 [95%CI: 0,00322–1,00], $p = 0,049$). Также выявлена ассоциация ОНВ *rs3756063* с риском развития БПД (OR = 0,50 [95%CI: 0,32–0,80], $p = 0,003$). Обнаружена ассоциация ОНВ *rs356219* и варианта *rs356168*GG* с риском развития ДТЛ (OR = 2,02 [95%CI: 1,27–3,23], $p = 0,003$; OR = 2,44 [95%CI: 1,23–4,82], $p = 0,01$, соответственно). Было выявлено снижение соотношения уровня мРНК сплайсинг варианта *SNCA112* и *SNCA140* (*SNCA112/SNCA140*) у пациентов с МСА по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$).

Обнаружено снижение уровня мРНК *SNCA140* у носителей варианта *rs3756063*GG* при сравнении групп пациентов как с МСА, так и БП с группой контроля ($p = 0,028$ и $p = 0,02$, соответственно). Также было показано снижение уровня мРНК *SNCA140* у носителей варианта *rs11931074*GG* при сравнении группы пациентов с БП и группы контроля ($p = 0,016$). Для пациентов с БП обнаружено увеличение уровня мРНК *SNCA140* у носителей варианта *rs356219*AG* по сравнению с носителями варианта *rs356219*AA* ($p = 0,046$), увеличение уровня мРНК *SNCA112* у носителей варианта *rs356168*AG* по сравнению с носителями варианта *rs356168*GG* ($p = 0,025$).

Таким образом, была показана ассоциация исследуемых ОНВ с риском развития синуклеинопатий среди жителей Северо-Западного региона России, а также влияние вариантов гена *SNCA* на уровень мРНК его сплайсинг изоформ в ЛПК при данных заболеваниях. Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 1023031500037–7–1.6.8;1.6.1;1.6.2;1.6.3 Изучение молекулярных и клеточных компонентов патогенеза социально-значимых заболеваний для разработки методов ранней диагностики и лечения).

[1] Murray I. V. et al. Role of alpha-synuclein carboxy-terminus on fibril formation in vitro. *Biochemistry*. 2003 Jul 22;42(28):8530–40.

[2] Schmitt I. et al. L-dopa increases α -synuclein DNA methylation in Parkinson's disease patients in vivo and in vitro. *Mov Disord*. 2015 Nov;30(13):1794–801.



Масштабный скрининг мутаций белка PrP мыши, приводящих к усилению или ослаблению его способности к амилоидной агрегации

А.Е. Зобнина¹, М.Е. Велижанина¹, Ю.В. Андрейчук¹, Ю.В. Сопова¹, А.А. Рубель¹

¹ Научная лаборатория биологии амилоидов, Санкт-Петербургский государственный университет, Россия,
Санкт-Петербург
agrad74@mail.ru

Целая группа неизлечимых смертельных заболеваний млекопитающих связана с накоплением в тканях головного мозга амилоидных агрегатов белка PrP (от Prion Protein). К этой группе заболеваний относятся «Коровье бешенство», «скреппи» овец и коз, «изнуряющая болезнь» лосей и оленей, болезнь норок и несколько заболеваний человека, таких как «Куру», болезнь Крейтцфельдта-Якоба, фатальная семейная бессонница и другие. Причиной прионных заболеваний является превращение белка PrP^C (cellular) в фибриллярную изоформу PrP^{Sc} (Scrapie), устойчивую к действию химических агентов и протеолитических ферментов. Превращение белка из PrP^C в изоформу PrP^{Sc} происходит различными путями: спонтанно (спорадические формы), поступление патологической формы PrP^{Sc} извне (приобретенные формы) и мутации в гене *Prnp*, обуславливающие образование PrP^{Sc} из PrP^C (наследственные формы). Поэтому важно изучать мутации, которые могут влиять на агрегацию PrP *in vivo*.

Для поиска мутаций, влияющих на агрегацию белка PrP, была использована разработанная нами ранее дрожжевая тест-система [1], позволяющая оценивать амилоидогенный потенциал белков по фенотипу — рост или отсутствие роста на селективной среде.

Нами была получена библиотека челночных плазмид с мутагенизированными вариантами гена *Prnp* мыши и проведен скрининг этой библиотеки с помощью дрожжевой тест-системы. В результате скрининга были выявлены как известные, так и ранее не описанные мутации, которые усиливают амилоидную агрегацию белка Pr P. Эти мутации представляют собой фактор риска развития наследственных форм прионных заболеваний у мыши и, возможно, у человека. Кроме того, впервые были обнаружены мутации, которые частично или полностью препятствуют прионной агрегации мышиного белка Pr P.

[1] Chandramowlishwaran *et al.* Mammalian amyloidogenic proteins promote prion nucleation in yeast // J Biol Chem. 2018 293(9):3436–3450. doi: 10.1074/jbc.M117.809004.

Работа выполнена при финансовой поддержке Санкт-Петербургского государственного университета (проект № 95444727). В работе использовали приборную базу РЦ «РМиКТ» Научного парка СПбГУ.



Полиморфизм генов семейства цитохромов P-450 и коморбидная патология у пациентов с COVID-19

Е.С. Иванова¹, М.А. Ид¹

¹ Южный Федеральный Университет, Ростов-на-Дону
ankatrina@yandex.ru

Введение: Ферменты цитохрома P-450 играют значительную роль в метаболизме эндогенных и экзогенных веществ. Их экспрессия и активность может снижаться под действием провоспалительных цитокинов, которые в большом количестве вырабатываются в организме при COVID-19. Полиморфизмы генов цитохрома могут влиять на эффективность лечения, а также быть ассоциированы с риском развития различных заболеваний. Результаты многих проведенных исследований свидетельствуют о взаимосвязи наличия сопутствующих заболеваний с тяжестью течения COVID-19 и неблагоприятными исходами.

Цель: Изучить наличие ассоциации между полиморфизмами *CYP1A2* rs2069522, *CYP3A4* rs28371759, *CYP3A4* rs2740574 и коморбидными состояниями у пациентов с COVID-19.

Материалы и методы: Полиморфизмы *CYP1A2* (rs2069522), *CYP3A4* (rs28371759), *CYP3A4* (rs2740574) были генотипированы у 45 пациентов с легкой формой COVID-19 и 45 пациентов с инфекцией тяжелой степени. Рекрутинг пациентов осуществлялся в период с 2021 по 2022 гг. Исследование проводилось в интерморбидный период (не менее 2х месяцев после выздоровления). Геномная ДНК была выделена из крови участников, генотипирование проводилось с помощью RT-PCR. Коморбидные состояния устанавливали на основе клинического обследования и данных анамнеза.

Результаты: Пациенты с генотипом AA (rs2740574) с легкой формой инфекции имели меньшее число сопутствующих заболеваний, чем пациенты с тем же генотипом, но тяжелой формой течения COVID-19 (56% и 76%, соответственно). Наиболее часто встречаемые нозологии у пациентов с легкой формой инфекции: артериальная гипертензия (15%), хронический гастрит (12%), патология щитовидной железы (7,3%). У пациентов с тяжелой формой инфекции чаще встречались: сердечно-сосудистая патология (артериальная гипертензия, ишемическая болезнь сердца, врожденный порок сердца) – 56%, сахарный диабет — 11%, заболевания легких — 9%, онкология – 5%. При генотипе AG (rs2740574) и легкой формой инфекции (9% пациентов) сопутствующие хронические заболевания отсутствовали. Пациенты с генотипом AG и GG и тяжелой формой инфекции (7%) имели сопутствующую патологию (рак молочной железы, хронический гепатит С, артериальная гипертензия).

Выводы: Генотип GG (rs2740574) гена *CYP3A4* ассоциирован с тяжелым течением COVID-19 у пациентов с коморбидной патологией сердечно-сосудистых заболеваний.

Исследование выполнено в рамках госзадания Минобрнауки РФ № FENW-2023-0018.



Влияние высококалорийной диеты на метаболизм меди в жировой ткани гетерозиготных мышей, нокаутных по гену болезни Вильсона *Atp7b*

Е. Ю. Ильичева^{1, 2, 3}, М. Аль Фаррух^{1, 2, 3}, З. М. Джассим¹, Е. А. Скоморохова^{1, 2}, Н. В. Цымбаленко²

¹ Университет ИТМО, Санкт-Петербург

² ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

³ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург

ilichevaey@itmo.ru

Болезнь Вильсона (БВ) — редкое наследственное моногенное аутосомно-рецессивное заболевание. Оно вызвано мутациями в гене *ATP7B*, кодирующем Cu-транспортную АТФазу, которые приводят к нарушению выведения Cu из организма и ее токсическому накоплению в клетках печени, мозга и других органов. В настоящее время существует несколько животных моделей БВ. Все они демонстрируют сходство с печеночной формой БВ, однако мыши с нокаутом гена *Atp7b* имеют и ее неврологические проявления, поэтому эта модель используется наиболее часто. Исследования БВ, в основном, проводятся с участием гомозиготных носителей мутаций в гене *ATP7B* или на *Atp7b*^{-/-} мышах. Однако число гетерозиготных носителей этого гена в некоторых регионах может достигать 3% от общего населения. Среди них часто выявляют индивидуумов, манифестирующих признаки БВ и/или болезни Паркинсона (БП), которые могут усиливаться в зависимости от различных экологических и генетических факторов.

Мы изучили влияние высококалорийной диеты (ВКД) на развитие признаков, характерных для метаболического синдрома, ассоциированного с БВ, у *Atp7b*^{+/-} мышей, так как пациенты с БВ склонны к его развитию. ВКД у *Atp7b*^{+/-} мышей не приводит к изменению показателей статуса Cu и липидного обмена. В печени *Atp7b*^{+/-} мышей обнаруживаются структурные нарушения, характерные для БВ, переходящие в жировую дистрофию и фиброз на фоне ВКД. Масса тела *Atp7b*^{+/-} мышей не отличается от контрольных, однако, за счет гипертрофии жировых клеток, у них происходит значительное увеличение объема жировой ткани (ЖТ). Кроме того, у всех *Atp7b*^{+/-} мышей, получавших ВКД, наблюдается активация ЖТ, сходной с бурой ЖТ, и снижение уровня глюкозы в крови. Уровень мРНК Cu-ассоциированных генов снижается в печени *Atp7b*^{+/-} мышей, получавших ВКД, и повышается в клетках подкожной ЖТ.

Полученные данные свидетельствуют о необходимости врачебного контроля гетерозиготных носителей БВ для предотвращения патологий печени, метаболических нарушений, а также ранней диагностики БП, которая потенциально может развиваться у этих пациентов.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-74-10087.



Оценка уровня мРНК генов *Fgf21* и *Klb* у мышей с разной степенью развития ожирения

А.Ю. Казанцева¹, Т.В. Яковлева¹, А.Д. Дубинина¹, Е.Н. Макарова¹, Н.М. Бажан¹

¹ ФИЦ ИЦИГ СО РАН, Новосибирск
sh@bionet.nsc.ru

При ожирении гормон печени фактор роста фибробластов 21 (FGF21) снижает вес тела, нормализует чувствительность к инсулину, уровень глюкозы и липидов в крови. Экспрессия FGF21 обнаружена также в других метаболических тканях, где FGF21 действует как паракринный фактор, образуя комплекс с трансмембранным белком b-Kloth (KLB).

В норме уровень FGF21 в крови очень низкий, однако активность FGF21-системы, которая определяется уровнем гормона в крови, экспрессией в тканях *Fgf21* и *Klb*, резко возрастает при ожирении. В настоящее время неизвестно, зависит ли активность FGF21-системы от степени развития ожирения. Цель работы — у мышей с различной степенью ожирения оценить концентрацию FGF21 в крови, а также уровень экспрессии генов *Fgf21* и *Klb* в различных метаболических тканях.

У 26-недельных самцов мышей C57Bl/6 с различной степенью ожирения, вызванной разными сроками, 2 и 10 недель, потребления корма с повышенным содержанием жиров и углеводов (диета кафетерия), измеряли иммуноферментным методом концентрацию FGF21 в плазме крови; оценивали уровень мРНК генов *Fgf21* и *Klb* в печени, мышцах, буром жире (BAT) и белом жире подкожной (scWAT) и окологонадной (pgWAT) локализации, методом RT-PCR. Контролем служили мыши C57Bl/6 соответствующего возраста, содержащиеся на стандартном корме.

Мыши, содержащиеся на диете кафетерия, увеличивали вес тела относительно контроля на 26% и 47%, соответственно длительности содержания. Уровень FGF21 в крови и экспрессия его гена во всех исследованных тканях зависели от степени развития ожирения. На фоне сильного ожирения эти показатели многократно возрастали относительно контроля и группы с менее выраженным ожирением.

Экспрессия гена ко-рецептора KLB, определяющего чувствительность к FGF21, имела тканеспецифичный характер: по мере развития ожирения в печени и scWAT она не менялась; в pgWAT и BAT — снижалась; в мышцах, в отличие от других тканей, усиливалась. Следовательно, при ожирении активность FGF21-системы в печени, scWAT и мышцах возрастает, тогда как в pgWAT и BAT — снижается.

Таким образом, мы впервые показали, что активность FGF21-системы зависит не только от степени развития ожирения, но и от типа метаболической ткани. Экспрессия *Fgf21* во всех метаболических тканях и уровень FGF21 в крови прямопропорциональны степени развития ожирения. Однако чувствительность к FGF21 носит тканеспецифический характер.

Работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ № 23-15-00093.



Ассоциация полиморфного варианта rs910652 гена *HSPA12B* с тяжелым течением COVID-19

А.Р. Карпенко¹, К.А. Кобзева¹, А.В. Дорофеева¹, М.А. Бабкина¹, В.А. Сергеева¹, О.Ю. Бушуева¹

¹ Курский государственный медицинский университет, Курск

dr.karpenkoar@yandex.ru

Аннотация: COVID-19, вызванный новым коронавирусом SARS-CoV-2, имеет различную степень тяжести: от легких или бессимптомных случаев до критических симптомов, таких как дыхательная недостаточность и полиорганная дисфункция. Белки теплового шока (HSPs) индуцируются клеточными стрессорами, такими как воспаление и инфекция, и участвуют в клеточном гомеостазе и иммунных реакциях. HSP обладают способностью защищать клетки и ткани от вредного воздействия воспаления, а также HSP70 может оказывать защитное действие на иммунную систему, способствуя процессингу и представлению антигенов.

Цель: Целью нашего исследования было оценить влияние полиморфных вариантов rs910652 *HSPA12B*, rs862832 *HSPA12B*, rs6457452 *HSPA1B*, rs753856 *HSPA6* — членов семейства HSP70, на тяжесть течения COVID-19 в популяции Центральной России.

Методы: В исследование были включены 1152 неродственных лиц из Центральной России, в том числе 199 пациентов с COVID-19, госпитализированных в отделения реанимации и интенсивной терапии стационаров г. Курска, и 905 пациентов контрольной группы с легкой формой COVID-19, не требующей госпитализации. Генотипирование SNPs осуществляли методом ПЦР в реальном времени. Для оценки ассоциаций использовалась лог-аддитивная регрессионная модель. Функциональное аннотирование SNPs проводили с использованием спектра биоинформатических ресурсов.

Результаты: Наше исследование показало, что аллель С rs910652 *HSPA12B* (OR = 0,76, 95%CI = 0,59–0,99, P = 0,036) снижает риск тяжелого течения COVID-19 независимо от пола, возраста и статуса курения. Биоинформатический анализ показал, что аллель С создает сайты связывания ДНК для транскрипционных факторов (ТФ), участвующих в патогенетически значимых для COVID-19 биологических процессах, включая сигнальный путь, опосредованный интерлейкином-9 (FDR = 0,00454), сигнальный путь, опосредованный интерлейкином-2 (GO: 0038113; FDR = 0,00569), сигнальный путь опосредованный интерлейкином-15 (GO:0035723; FDR = 0,00859), клеточный ответ на стимул трансформирующего фактора роста бета (GO:0071560; FDR = 0,0481), сигнальный путь рецептора гормона роста через JAK-STAT (GO: 0060397; FDR = 0,00755), и, наоборот, этот аллель приводит к потере связывания с ТФ, участвующими в следующих биологических процессах: клеточный ответ на стимул простагландина E (GO:0071380; FDR = 0,027), клеточный ответ на гипоксию (GO:0071456; FDR = 0,00344). Следует отметить, что IL-15 и сигнальный путь JAK-STAT ингибируют репликацию вируса и снижают вирусную нагрузку и, следовательно, уменьшают воспаление и фиброз, вызванные SARS-CoV-2. В то время как нарушение иммунного ответа, опосредованного простагландином E2, способствует развитию тяжелого течения заболевания COVID-19. Кроме того, защитный аллель С rs910652 *HSPA12B* посредством cis-eQTL эффектов в цельной крови модулирует уровни экспрессии генов: *C20orf27*, *CDC25B*, *HSPA12B*, *PANK2* и *LINC01730*. Примечательно, что *HSPA12B* известен своей способностью подавлять вызванные липополисахаридами воспалительные реакции в эндотелиальных клетках.

Заключение. В нашем исследовании впервые в мире установлен защитный эффект rs910652 *HSPA12B* относительно тяжелого течения COVID-19.



Динамика возраста матерей и эффективность пренатального скрининга в Санкт-Петербурге (2013–2023)

Т.К. Кашеева¹, Е.С. Шабанова², А.Л. Коротеев³

¹ ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта», Санкт-Петербург

² ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова Минздрава России, Санкт-Петербург ЗСПБ ГБУЗ «Диагностический центр (медико-генетический)», Санкт-Петербург

tkklpd@mail.ru

Профилактика рождения детей с врожденными пороками развития является основной задачей, стоящей перед специалистами по пренатальной диагностике. Комбинированный ультразвуковой и биохимический скрининг в 11–13 недель беременности после пилотного исследования в ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта» (2003–2005 гг.) был внедрен в городскую программу с 2006 года, в 2010 — выборочно по регионам, а затем во всех субъектах РФ. В Санкт-Петербурге с 2012 года проводится уже ставший рутинным, но не менее важным, массовый пренатальный скрининг хромосомной патологии в 1-м триместре беременности. В Отделе геномной медицины им. В. С. Баранова проанализированы случаи пре- и постнатального выявления синдрома Дауна у детей пациенток, наблюдавшихся в медицинских учреждениях Санкт-Петербурга с 2013 по 2023 год. Оценивались частоты трисомии по 21-й хромосоме в разных возрастных группах пациенток (от 19 до 48 лет) и эффективность пренатального скрининга с учетом появления новых методов прекоцепционной и пренатальной диагностики. С 2013 года продолжается как общее снижение рождаемости, так и существенное повышение возраста не только последующих, но и первых родов. Обсуждаются использование новейших молекулярно-генетических технологий и демографические проблемы.



Новая мутация с.2781_2782insCACA в гене *MYBPC3* вызывает значительное снижение уровня транскрипта гена в миокарде при гипертрофической кардиомиопатии

И.С. Киселев¹, М.С. Козин¹, Н.М. Баулина¹, М.Б. Шарипова², А.С. Зотов¹, Е.А. Степанова³,
Э.В. Курилина¹, Г.Ж. Абдуллаева⁴, Д.А. Затейщиков⁵, О.С. Чумакова⁵, О.О. Фаворова¹

¹ Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии им. академика Е.И. Чазова Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

² Бухарский областной многопрофильный медицинский центр, Бухара, Узбекистан

³ Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва, Россия

⁴ Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр кардиологии, Ташкент, Узбекистан

⁵ Городская клиническая больница № 17 Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Россия
kiselev.ivan.1991@gmail.com

Гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) – самое распространенное наследственное заболевание сердца с частотой встречаемости 1:200 – 1:500. В основе ГКМП обычно лежат патогенные (или вероятно патогенные) варианты в генах, кодирующих белки саркомера, и в первую очередь — в гене *MYBPC3*.

Нами идентифицирован новый вариант со сдвигом рамки считывания с.2781_2782insCACA в гене *MYBPC3* у пациента с тяжелой ГКМП и его родственников. Для установления патогенетической значимости варианта мы провели анализ аллель-специфической экспрессии гена *MYBPC3* в образце миокарда пробанда. Относительный уровень мутантной мРНК оказался в 7.25 раз ниже, чем мРНК дикого типа. Сравнение суммарного уровня транскриптов *MYBPC3* в миокарде пробанда и других индивидов, не имеющих патогенных/вероятно патогенных вариантов в гене *MYBPC3*, ожидаемо выявило снижение уровня транскриптов у пробанда более чем в два раза по сравнению с индивидами контрольной группы. *In silico* моделирование структуры мутантного белка показало, что вариант с.2781_2782insCACA приводит к синтезу усеченного белка с измененной последовательностью домена С8 и отсутствующими доменами С9-С10.

В целом, мы показали, что обнаруженный нами новый вариант в гене *MYBPC3* вызывает образование мутантной мРНК, которая в значительной степени деградирует, по-видимому, в результате нон-сенс-опосредованного распада, а транслируемый с нее белковый продукт с высокой вероятностью должен иметь сниженную функциональность за счет изменения трехмерной структуры и потери ключевых С-концевых экзонов.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 20-15-00353).



Дифференциальная экспрессия генов у пациентов с наследственной и спорадической формами гипертрофической кардиомиопатии

А.Л. Класс¹, П.А. Сломинский¹, И.Н. Власов¹, М.И. Шадрин¹, А.В. Лысенко², Г.И. Салагаев²,
Е.В. Филатова¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт», Москва

² Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва

ania.klass@yandex.ru

Гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) — одна из наиболее распространенных кардиомиопатий, характеризующаяся преимущественно гипертрофией левого желудочка. Несмотря на то, что ГКМП общепринято считается наследственной патологией, примерно в 40% случаев генетическая причина патологии неизвестна, а в более 60% случаев ГКМП выявляется в семье впервые. Молекулярно-генетические механизмы развития ГКМП до сих пор изучены недостаточно. В связи с этим, цель данной работы заключалась в анализе полнотранскриптомного профиля миокарда пациентов с тяжелой формой ГКМП и выявлении особенностей экспрессии генов у пациентов со спорадической и наследственной формами патологии.

В данной работе было проведено секвенирование полного транскриптома образцов миокарда от 24-х пациентов с тяжелой формой ГКМП. При создании выборки, помимо основных биологических критериев (пол, возраст), также учитывались следующие параметры: медикаментозная терапия, сопутствующие сердечно-сосудистые заболевания, предшествующие операции на сердце, а также наличие случаев ГКМП и внезапной сердечной смерти (ВСС) в семейном анамнезе. В результате биоинформатической обработки полученных RNA-seq данных были выявлены дифференциально экспрессирующиеся гены (*CHRM3*, *ADAMTS10*, *PLCB1*) в группах сравнения, разделенных с учетом наличия или отсутствия случаев ГКМП/ВСС в семейном анамнезе. Далее был проведен анализ относительных уровней экспрессии отдельных генов-кандидатов у пациентов с наследственной и спорадической формами ГКМП (27 и 42 человека, соответственно) и пациентов с негипертрофическими патологиями миокарда (5 человек (ишемическая болезнь сердца)). Были выявлены изменения в экспрессии генов *PLCB1* и *ADAMTS10*. Полученные данные могут свидетельствовать о вовлеченности указанных генов в молекулярно-генетические механизмы патогенеза ГКМП, а также в перспективе могут стать полезными при поиске мишеней для разработки таргетной терапии ГКМП.

Финансовая поддержка: грант РФФИ № 22-15-00243.



Роль полиморфного варианта RS187084 гена *TLR-9* в развитии остеоартроза в различных популяциях

Г.К. Кныш¹

¹ Академия Биологии и биотехнологии ЮФУ, г. Ростов-на-Дону
ivanivanovivanovich913245@gmail.com

Остеоартроз (ОА) — дегенеративно-дистрофическое заболевание суставов, причиной которого является поражение хрящевой ткани суставных поверхностей. По данным ВОЗ этим заболеванием страдает более 520 млн человек в мире, и эта цифра неуклонно растёт. ОА является многофакторным заболеванием. Экспрессия *TLR-9* является фактором, который приводит к продукции провоспалительных цитокинов, которые положительно коррелируют с деградации хряща при ОА (Torshin I. Yu., 2021). Гены *TLR* остаются сильными кандидатами на роль генов предрасположенности к ОА, учитывая их решающую роль в передаче воспалительных сигналов.

Цель исследования — провести мета-анализ по протоколу PRISMA для оценки риска развития ОА у пациентов с rs187084 гена *TLR-9*.

Материалы и методы. Данные для мета-анализа были взяты из публикаций в базах данных Google academy, PubMed, eLibrary, за период с 2000 по 2024 гг. Критерий включения: Исследование «случай-контроль», генотипирование rs187084. Критерии исключения: повторяющиеся исследования, отсутствие «случай-контроль», обзоры. Исследование проведено в соответствии с протоколом PRISMA (Liberati, 2009). Анализ проводился на программе Review Manager 5.4.1.

Результаты исследования. В мета-анализ согласно критериям было отобрано 5 исследований из 11: Stefik, D. 2023 (Serbia); Zheng, M. 2017, (China); Xiaoqing, Yi. 2019, (China); Sui-Lung, Su. 2011, (China); Ozlem, Balbaloglu. 2017, (Turkey). Общее число пациентов составило 4067 человек, из которых 1811 имели диагноз остеоартроз. В результате исследования мы наблюдали ассоциацию между rs187084 и предрасположенностью к ОА во в следующих генетических моделях рецессивная (ОШ = 0,82, 95% ДИ: 0,68–0,98, Pz = 0,03, Pi2 = 0.0001), аллельная (ОШ = 0,88, 95% ДИ: 0,80–0,96, Pz = 0.005, Pi2 = 0.0001).

Положительная ассоциация полиморфизма *TLR-9* rs187084 с развитием ОА зарегистрирована для генотипа ТТ, у популяции из Китая, OR(CI) 1.31. Для генотипа СС у пациентов из Сербии OR(CI) 1.94(0.93–4.05) и Турции OR(CI) 2.11(1.33–3,36) ассоциации не обнаружено OR(CI) 0.82(0.68–0.98). Различия по этнической принадлежности могут причиной наблюдаемых расхождений.



Связь вариаций гена *HSPA4* с риском развития ишемического инсульта

К. А. Кобзева^{1, 2}, А. В. Дорофеева¹, М. А. Бабкина¹, Е. И. Колодежная¹, О. Ю. Бушуева¹

¹ Курский государственный медицинский университет, Курск

² Курский государственный университет, Курск

kseniya.kobzeva.0246@gmail.com

Аннотация: Ишемический инсульт (ИИ) входит в число ведущих причин смертности и инвалидизации во всем мире. Белки теплового шока (HSP) играют ключевую роль в развитии ИИ и постинсультных состояниях. Среди них HSP70 выделяется своим участием в патогенезе ИИ, влияя на воспаление, эндотелиальную дисфункцию, агрегацию тромбоцитов и атеросклероз. HSP70 также защищает протеом при стрессе, способствует сворачиванию и транспортировке полипептидов, активирует протеолиз и регулирует образование белковых комплексов.

Цель: Целью настоящего исследования стало изучение ассоциации полиморфизмов генов, кодирующих белки семейства HSP70 (*HSPA4*, *HSPA5*), с риском и клиническими особенностями ИИ.

Методы: образцы ДНК 1018 пациентов с ИИ и 1019 здоровых лиц были генотипированы с использованием системы MassArray-4 для rs11741927, rs12173082, rs4616886, rs1174996 *HSPA4*; rs12009, rs430397 *HSPA5*. Для оценки ассоциаций была использована лог-аддитивная регрессионная модель. Для анализа функциональных эффектов SNPs использовались биоинформатические ресурсы.

Результаты: В данном исследовании впервые в мире установлено, что носительство аллеля С rs4616886 *HSPA4* ассоциировано со снижением риска ИИ (OR = 0,62, 95%CI 0,42–0,90, P = 0,0076). Кроме того, защитный аллель С rs4616886 *HSPA4* был связан с более поздним возрастом возникновения ИИ (P = 0,01). Используя биоинформатические ресурсы, мы обнаружили, что носительство аллеля С rs4616886 *HSPA4* создает сайты связывания для факторов транскрипции, участвующих в нескольких патогенетически значимых для ИИ биологических процессах, включая негативную регуляцию апоптоза (GO:0043066; FDR = 0,0126), дифференцировку пенистых клеток из макрофагов (GO:0010742; FDR = 0,00682), неоангиогенез (GO:0001568; FDR = 0,0228), регуляцию миграции эндотелиальных клеток кровеносных сосудов (GO:0043535; FDR = 0,0343), реакции на окислительный стресс (GO:0006979; FDR = 0,0303). Более того, в крови этот аллель, посредством эффектов cis-eQTL, влияет на уровни экспрессии *SHROOM1*, *HSPA4*, *UQCRQ*, *SLC22A5* и *LEAP2* в крови. Среди этих генов выделяется *UQCRQ* — субъединица комплекса цитохром с-редуктазы III, участвующая в пути окислительного фосфорилирования и дыхательной цепи митохондрий. Предыдущие исследования связали *UQCRQ* с такими состояниями, как ишемическая болезнь сердца и тромбоз, что подчеркивает его возможную роль в потенциально значимых для ИИ патогенетических механизмах.

Заключение. Таким образом, полиморфизм гена *HSPA4* представляет собой новый генетический маркер риска ИИ и влияет на возраст возникновения ИИ.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (№ 22-15-00288, <https://rscf.ru/project/22-15-00288/>).



Цифровой двойник пациента

Ф.А. Колпаков¹, Е.О. Кутумова^{1, 2}, П.Ю. Кондрахин¹, Г.И. Лифшиц³

¹ Научно-технологический Университет «Сириус», пгт. Сириус

² ФИЦ Информационных и вычислительных технологий, г. Новосибирск

³ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

kolpakov.fa@talantiuspeh.ru

Эффективная персонализация лекарственной терапии и прогнозирование рисков возникновения различных заболеваний может быть основана на цифровом двойнике пациента — вычислительной модели, в которую заложены данные индивидуального человека. В будущем такие цифровые двойники пациентов могут не только стать центральным элементом нашей системы здравоохранения, уменьшая ошибки в диагностике и лечении заболеваний, но и могут действовать как «ангелы-хранители», сопровождая нас через всю жизнь и помогая нам разумно сберечь собственное здоровье.

В настоящее время разработка систем поддержки принятия врачебных решений опирается на статистический анализ данных, собранных из электронных медицинских карт пациентов. Мы предлагаем расширить данный подход посредством предиктивного моделирования физиологии пациентов с учетом их генетических данных.

Нами разработан уникальный алгоритм персонализации параметров модели по клиническим, биохимическим, патофизиологическим и генетическим данным пациента с возможностью персонализации модели на неполном наборе данных о пациенте. Чтобы решить проблему с неизвестными персональными параметрами, строится множество моделей виртуальных пациентов, при этом известные параметры у этих моделей соответствуют данным заданного пациента, а неизвестные параметры моделей могут существенно варьироваться. Данный алгоритм реализован в оригинальной компьютерной платформе BioUML (Kolpakov et al., 2022), которая, в том числе, предназначена для создания и численного анализа математических моделей живых систем на основе модульного подхода и визуального моделирования.

Артериальная гипертензия является одним из наиболее важных социально-значимых заболеваний. Поэтому использование цифрового двойника пациента для прогнозирования риска возникновения и прогрессирования АГ, а также оптимизации лекарственной терапии с учетом данных генетического тестирования, является крайне актуальной задачей. В докладе будут представлены последние достижения нашей группы по этому направлению (Kutumova et al., 2022, 2023).

Данный подход также может быть применен и для других заболеваний. Так нами построена первая версия многоуровневой модели возникновения эпилептических припадков (Кондрахин, Колпаков, 2023), полученная с помощью объединения ранее существовавших математических моделей эпилепсии регионального и клеточного уровней, которая способна описывать взаимодействия между взаимосвязанными регионами мозга с учетом биофизических процессов, происходящих внутри отдельного нейрона. Далее будут построены модели лекарственной терапии эпилепсии.

1. Kolpakov F., Akberdin I., Kiselev I., Kolmykov S., Kondrakhin Y., Kulyashov M., Kutumova E., Pintus S., Ryabova A., Sharipov R., Yevshin I., Zhatchenko S., Kel A. BioUML—towards a universal research platform // *Nucleic Acids Research* — 2022. — V. 50, № W1. — P. W124–W131.
2. Kutumova E., Kiselev I., Sharipov R., Lifshits G., Kolpakov F. Mathematical modeling of antihypertensive therapy // *Frontiers in Physiology* — 2022. — V.13.
3. Kutumova E., Kovaleva A., Sharipov R., Lifshits G., Kolpakov F. Mathematical modeling of the influence of ACE I/D polymorphism on blood pressure and antihypertensive therapy // *bioRxiv* 2024.01.09.574774; doi: 10.1101/2024.01.09.574774
4. Кондрахин П. Ю., Колпаков Ф. А. Многоуровневая математическая модель эпилептических припадков // *Математическая биология и биоинформатика* — 2023. — Т. 18



Анализ экспрессии генов в тканях пациентов с диагнозом амиоплазия

А.Е. Комиссаров¹, И.В. Ткачева¹, Е.М. Латыпова¹, О.И. Большакова¹, С.В. Саранцева¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Гатчина
tem3650@yandex.ru

Артрогрипоз — врождённое заболевание опорно-двигательной системы, характеризующееся формированием контрактур суставов, а также повреждением нейронов спинного мозга с первичной атрофией мышц. Наиболее часто встречающейся формой врожденного множественного артрогрипоза является амиоплазия, которая носит спорадический характер, наследственных случаев на сегодняшний день не наблюдалось [1]. К возможным причинам развития заболевания относят перенесенные в перинатальном периоде вирусные и бактериальные инфекции, химические вещества или лекарственные препараты, ограничение внутриматочного пространства, многоводие и маловодие. Несмотря на большое количество исследований, направленных на изучение молекулярных и клеточных аспектов патогенеза артрогрипоза, этиология данного заболевания остается недостаточно изученной [2].

Целью данной работы явился анализ экспрессии генов в тканях пациентов с диагнозом амиоплазия. В ходе проведения исследования была выделена тотальная РНК из 20 биоптатов от пациентов с диагнозом амиоплазия и индивидуумов условного контроля с последующей очисткой от рибосомальной РНК. Материал предоставлен ФГБУ «Научно-исследовательский детский ортопедический институт имени Г.И. Турнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Для выявления дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) проводился транскриптомный анализ образцов РНК с помощью проточной ячейки FCL (PE100, 360 Гб) на секвенаторе DNBSEQ-G400.

В результате биоинформатической обработки были выявлены гены, уровень экспрессии которых снижался относительно контрольных образцов. Продукты данных генов влияют на развитие мышечной ткани, а также правильное функционирование нейронов. Также были выявлены гены, уровень экспрессии которых увеличивался относительно контрольных образцов. Продукты этих генов регулируют окислительно-восстановительные процессы, дифференцирование клеток жировой ткани, а также сборку мышечных филаментов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 23-24-00555).

- [1] Griffet J. et al. Amyoplasia and distal arthrogyrosis // Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research. — 2021. — Т. 107. — № 1. — С. 102781.
- [2] Агранович О. Е. и др. Консервативное лечение деформаций верхних и нижних конечностей у детей раннего возраста с артрогрипозом // Детская хирургия. — 2012. — № 2. — С. 10–15.



Генетический скрининг детей больных гипоспадияей: исследование гена CFTR и локуса AZF методом ПЦР в реальном времени

Е.А. Косачева¹

¹ Научно-исследовательский институт урологии и интервенционной радиологии имени Н.А. Лопаткина – филиал НМИЦ радиологии Минздрава России, Москва

elisabeth.kosacheva@gmail.com

Гипоспадия — одна из часто встречаемых аномалий развития мочеполовой системы после крипторхизма.

Любое генетическое нарушение или изменение сигнальных путей в развитии наружных половых органов у мужчин, а также уретры может привести к развитию различных пороков развития, включая гипоспадию.

Таким образом, выявление данной нозологии на ранних стадиях развития плода, а также понимание рисков возможного возникновения патологии у эмбриона является актуальной задачей.

Причинами возникновения данной нозологии могут быть генетические перестройки как в гене CFTR, так и в локусе AZF, мутации и делеции в которых часто обнаруживаются при диагнозе «мужское бесплодие».

В эмбриогенезе экспрессия дефектного белка CFTR приводит к патологиям развития семявыносящих протоков, семенных пузырьков и, как следствие, врожденной двусторонней или односторонней аплазии семявыносящих протоков.

У пациентов с делециями в локусе AZF тоже встречаются фенотипические проявления: гипоспадия, крипторхизм, микроорхидизм и гипогонадизм.

Таким образом, исследования изменений в гене CFTR и локусе AZF являются перспективными. Они помогут определить одни из возможных причин развития гипоспадии у детей, а также выявить вероятность развития возможной патологии.

Среди 25 обследованных детей на предмет наличия мутаций в гене CFTR не было найдено никаких изменений в этом гене, отсюда можно сделать вывод, что этот ген не оказывает значительного влияния на развитие данной патологии. Однако имеет смысл продолжать исследования на больших выборках для получения более достоверных статистических данных.

В группе из 21 пациента с гипоспадией на наличие делеций в локусе AZF было два случая с множественными делециями. Они находятся во всех трёх участках локуса. В участке AZFb есть полная делеция гена RBMY, а также зафиксированы делеции в субрегионе AZFc гена DAZ и AZFa в генах USP9Y и DBY. Вероятно, на больших выборках будут найдены статистически значимые зависимости данной патологии и делециями в локусе AZF.

Таким образом, дальнейший поиск мутаций в гене CFTR и делеций в локусе AZF является приоритетной задачей, поскольку их диагностика поможет спрогнозировать развитие патологий, а также усовершенствовать подходы к пренатальному скринингу, способствовать повышению качества медико-генетического консультирования и разработке методов лечения пациентов.



Анализ фенотипа для верификации прогероидного синдрома

М.А. Корженевская¹, С.А. Лаптев¹, Т.Л. Гиндина¹

¹ ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова МЗ РФ

telula87@gmail.com

Для большинства моногенных заболеваний характерен феномен плейотропии, при котором поражаются многие системы органов и возникают специфические фенотипы. Существует сходство между сочетаниями микроаномалий развития (МАР) при некоторых прогероидных синдромах. Клинически такие заболевания проявляются иммунодефицитами, ускоренным старением, онкопатологией, неврологической симптоматикой, кожными изменениями, отставанием в умственном и/или физическом развитии. Все синдромы прогероидной группы считаются моногенными и обусловлены мутациями генов, связанных с ферментами репарации ДНК, дефекты в которых сопровождаются хромосомными aberrациями (ХА) и геномной нестабильностью.

Цель данной работы состояла в выявлении особенностей фенотипа пациентки с диагнозом обыкновенный псориаз, позволяющих отнести ее состояние к наследственному прогероидному синдрому, и получить цитогенетическое подтверждение наследственной патологии.

В клинике дерматовенерологии наблюдалась пациентка в возрасте 25 лет, проходившая лечение по поводу псориаза. Анализ родословной показал наличие трех ее членов в двух поколениях с ихтиозоподобным поражением кожи у пробанда, отца пробанда и погибшего в 1 месяц жизни сибса, что указывало на наследственный доминантный характер заболевания. Дерматологический диагноз-псориаз пробанду был выставлен в 1 год жизни. Морфологический анализ выявил ряд специфических МАР: большая голова, отечность щек, микроденция и олигоденция нижней челюсти, выпуклый лоб, маленький «птичий» нос, ассиметричное расположение глаз, низко расположенные ушные раковины, пахионихия ногтей нижних конечностей, редкие волосы, с очагами алопеции на голове, высокий голос, остеопороз, разная длина рук, маленькие кисти и стопы, низкий рост (147 см) и вес (42 кг), сниженная фертильность, фоточувствительность кожи и ЗПР, что соответствовало признакам прогероидного фенотипа. Результаты проведенного гистопатологического исследования кожи пациентки показали совпадение поражения кожи с признаками врожденной пойкилодермии, характерной для с. Ротмунда-Томсона. Для выявления геномной нестабильности использовали цитогенетический тест с митомицином-С. В культуре с митомицином-С процент ХА составил 80% против 6% в культуре без митомицина-С. Фенотип пациентки был определен как наследственный синдромальный с доминантным типом наследования и неполной пенетрантностью, сопровождающийся геномной нестабильностью, что позволяет установить диагноз с. Ротмунда-Томсона.



Анализ экспрессии длинных некодирующих РНК при моделировании болезни Паркинсона

М.В. Лукашевич¹, М.М. Руденок¹, С.А. Партевян¹, Е.И. Семенова¹, П.А. Сломинский¹, М.И. Шадрина¹,
А.Х. Алиева¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт», Москва

farouki@mail.ru

Болезнь Паркинсона (БП) — одно из самых распространённых и неуклонно прогрессирующих нейродегенеративных заболеваний. БП негативно влияет на качество жизни человека, вызывая характерные двигательные симптомы, обусловленные гибелью дофаминергических нейронов в черной субстанции головного мозга и их аксональных проекций в стриатуме.

В последнее время активно изучаются молекулярно-генетические факторы, вовлеченные в патогенез БП. Были обнаружены гены, мутации в которых могут приводить к развитию БП, а также полиморфизмы, которые ассоциированы с данным заболеванием. При изучении транскриптома также было выявлено большое количество дифференциально экспрессирующихся генов и некодирующих РНК, в том числе длинных некодирующих РНК (днкРНК). К ним относятся РНК длиной более 200 п. н., которые не кодируют белок, однако играют важную роль в регуляции экспрессии генов на этапах транскрипции и/или трансляции. Активно изучается роль днкРНК в патогенезе нейродегенеративных заболеваний, в том числе БП. Есть данные о том, что днкРНК могут быть вовлечены в такие процессы, связанные с БП, как нарушение работы митохондрий, апоптоз и нейровоспаление.

В связи с этим был проведен экспрессионный анализ относительных уровней днкРНК *Malat1* и *Snhg14* у мышей с МФТП-индуцированной хронической моделью БП. При этом были разработаны и провалидированы системы праймеров и зондов TaqMan. Анализ проводился в тканях черной субстанции и стриатуме мышей с моделированием паркинсон-подобного фенотипа через одну неделю, два месяца и шесть месяцев после последней инъекции нейротоксина.

Финансирование: работа поддержана грантом РФФ № 20-15-00262П.



Изучение механизма нетипичного течения болезни Вильсона, выражающееся в восстановлении показателей статуса меди у взрослых мышей с нокаутом гена *ATP7B* -/-

Д.Н. Магазенкова¹, А.Л. Ткачев², Е.А. Поташева²

¹ а) ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»;
б) Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого;
в) Университет ИТМО

² Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого
magdash@mail.ru

Введение. Болезнь Вильсона (БВ) — тяжелое наследственное заболевание, развивающееся вследствие мутации в гене *ATP7B*, приводящей к дисфункции одноименного белка. Снижение функции *ATP7B* приводит к нарушению встраивания ионов меди в церулоплазмин (ЦП), в результате чего у пациентов с БВ наблюдается низкий уровень оксидазной активности (ОА) ЦП в крови. Однако на мышинной модели БВ с нокаутом гена *ATP7B* -/- было показано, что некоторые особи могут восстанавливать уровень ОА ЦП до нормальных значений. Исследование данного феномена позволит лучше понять механизм течения БВ, а также поможет выявить новые мишени для терапии заболевания.

Цель. Изучение механизма, лежащем в основе развития фенотипа БВ, не соответствующего генотипу.

Результаты. В работе использовали 15 мышей, которые были разделены на 3 группы: (1) интактные мыши дикого типа, (2) мыши *ATP7B* -/-, восстановившие ОА, и (3) мыши *ATP7B* -/-, не восстановившие ОА. Было показано, что у всех мышей *ATP7B* -/- уровень АЛТ и АСТ в крови повышен, причем в группе 2 эти показатели были выше, чем в группе 3. Концентрация общей меди в сыворотке крови у мышей группы 2 была выше, чем у особей группы 3, концентрация которой находилась на уровне группы 1. Напротив, в печени удельное содержание меди у всех мышей *ATP7B* -/- в тысячи раз превышало её количество у животных группы 1. Мыши группы 1 и 2 имели одинаковый уровень ОА в сыворотке крови, а мыши группы 3 имели ОА в несколько раз ниже, что является типичным для БВ. Аналогичные результаты показал иммуноблоттинг в сыворотке крови: группы 1 и 2 имели одинаковый уровень белка ЦП, а в группе 3 его содержание было ниже. При этом анализ экспрессии гена *Cp* в печени показал достоверно более низкие значения у групп 2 и 3 относительно контроля.

Вывод. Представленные результаты показывают, что низкий уровень показателей статуса меди, развивающийся вследствие генетического дефекта, может быть компенсирован за счет эктопического синтеза секреторного ЦП.



Активация процесса партанатоза в нейронах, дифференцированных из ИПСК пациентов с нейродегенеративными заболеваниями

А. А. Малахова¹, С. П. Медведев¹, С. М. Закиян¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Федеральный исследовательский центр «Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»

amal@bionet.nsc.ru

В основе молекулярных механизмов развития большинства нейродегенеративных заболеваний лежит накопление в нейронах агрегатов неправильно свернутых белков — синуклеина при болезни Паркинсона, хантингтина при болезни Хантингтона и др. Протеинопатии приводят к развитию стресса эндоплазматического ретикулума, к нарушению процессов аутофагии, а дисфункция митохондрий вызывает развитие окислительного стресса. Повышенный уровень активных форм кислорода в клетках ведет к накоплению повреждений в ДНК. Одним из основных ферментов, запускающих процесс репарации, является поли(АДФ-рибоза) полимеразы I (PARP1), которая связывается с ДНК в местах одно- и двуцепочечных разрывов и начинает синтез поли(АДФ-рибозы) (PAR) из NAD⁺, привлекая к месту повреждения ферменты репарации. Гиперактивация PARP1 в нейронах при нейродегенеративных расстройствах приводит к истощению пула NAD⁺ и избыточному накоплению PAR. Цепочки PAR перемещаются из ядра в цитоплазму, вызывая повреждение мембран митохондрий и активацию транслокации апоптоз-индуцирующего фактора AIF в ядро. Ядерная форма белка AIF запускает процесс деградации ДНК, приводящий к гибели клеток по механизму партанатоза.

Для визуализации запуска процесса партанатоза в живых клетках мы создали генетические конструкции, экспрессирующие химерный белок AIF, слитый с флуоресцентным репортером TagGFP. Было создано несколько вариантов конструкции, в которых TagGFP расположен либо на N-конце химерного белка, либо на C-конце, либо замещает один из функциональных доменов белка AIF. Работа созданных конструкций проверена на клетках линии HEK293FT, обработанных 300 мкМ перекисью водорода в течение 10 минут, а также на предшественниках нейронов, дифференцированных из ИПСК. Накопление одно- и двуцепочечных разрывов в ДНК в результате обработки H₂O₂ приводит к активации PARP1 и синтезу PAR, что показано с помощью иммуофлуоресцентного окрашивания. При избыточном накоплении PAR должно начинаться перемещение AIF и флуоресцентного репортера из митохондрий в ядро клетки. Дальнейший этап работы включает внесение трансгена AIF-TagGFP в геном ИПСК пациентов с болезнью Хантингтона и Паркинсона и их дифференцировка в нейроны с целью создания клеточной модели для изучения процесса партанатоза и тестирования препаратов, способных предотвратить гибель клеток при нейродегенерации.

Работа поддержана грантом РФФИ № 23-15-00224.



Полиморфные варианты генов *TLR4* (rs4986790, rs4986791), *MTOR* (rs2295080, rs1883965) и риск развития саркоидоза лёгких

И.Е. Малышева¹, Л.В. Топчиева¹, Э.Л. Тихонович²

¹ ИБ КарНЦ РАН

² Республиканская больница им. В.А. Баранова, г. Петрозаводск

i.e.malysheva@yandex.ru

Аллельные вариации в генах врожденного иммунитета (Toll-подобные рецепторы) и генах сигнального пути mTOR (*MTOR*) могут быть связаны с риском развития и прогрессирования мультифакторных заболеваний, в том числе саркоидоз лёгких (Weeratunga et al., 2022). Это системное иммуновоспалительное гранулематозное заболевание неустановленной этиологии. Известно, что система врожденного иммунитета играет значимую роль в поддержании тканевого гомеостаза. В контроле и формировании эффекторных реакций клеток врождённого иммунитета в ответ на местные или системные нарушения, вызванные патогенными микроорганизмами, важная роль принадлежит сигнальному пути mTOR. Компоненты данного сигнального пути принимают участие в регуляции клеточного метаболизма, презентации антигенов, поляризации макрофагов, миграции клеток (Weichhart et al., 2015). Нами обследовано 253 человека русского происхождения, проживающих в Республике Карелия (122 больных с диагнозом морфологически верифицированный саркоидоз с поражением лёгких (ср. возраст — $41,00 \pm 12,56$ года), и 131 условно здоровый человек (контрольная группа) (ср. возраст — $44,00 \pm 14,23$ года). По результатам исследования не установлено статистически значимых различий в распределении частот аллелей и генотипов по полиморфным маркерам гена *TLR4* (rs4986790, rs4986791) и гена *MTOR* (rs2295080, rs1883965) в исследуемых группах ($p > 0,05$). В то же время у больных саркоидозом лёгких выявлено повышение количества транскриптов гена *TLR4* в лейкоцитах периферической крови (ЛПК) по сравнению с условно здоровыми индивидами ($p = 0,029$). Также установлено статистически значимое повышение уровня экспрессии гена *MTOR* в ЛПК больных саркоидозом лёгких по сравнению с контрольной группой ($p = 0,007$). При этом отмечено снижение количества транскриптов указанного гена у пациентов, получающих терапию по сравнению с пациентами без терапии ($p = 0,025$).

Таким образом, полиморфные маркеры гена *TLR4* (rs4986790, rs4986791) и гена *MTOR* (rs2295080, rs1883965) не связаны с риском развития саркоидоза лёгких у русского населения Республики Карелия. Повышенный уровень транскриптов генов *TLR4* и *MTOR* в ЛПК больных саркоидозом лёгких, вероятно, может свидетельствовать об активации клеток врожденного иммунитета и сигнальных путей, вовлечении в регуляцию клеточного гомеостаза при данном заболевании.

[1] Weeratunga P., Moller D. R., Ho L. P. Immune mechanisms in fibrotic pulmonary sarcoidosis. Eur. Respir. Rev. 2022;31(166):220178. doi: 10.1183/16000617.0178-2022

[2] Weichhart T., Hengstschläger M., Linke M. Regulation of innate immune cell function by mTOR. Nat. Rev. Immunol. 2015;15(10):599–614. doi: 10.1038/nri3901



Поиск экспрессионных генетических маркеров, ассоциированных с феохромоцитомой

К.О. Маслова¹, З.Г. Кокаева¹, Л.Н. Нефедова¹

¹ МГУ имени М.В. Ломоносова, Биологический факультет, г. Москва

maslova_2002@mail.ru

Феохромоцитома/параганглиома (ФХЦ/ПГ) — опухоль из хромоффинной ткани, возникающая в мозговом слое надпочечника или параганглиях симпатической/ парасимпатической нервной системы, продуцирующая катехоламины. Установлено, что наследственная причина опухолей выявляется у 70% пациентов. На основании комплексного молекулярно-генетического, биохимического и иммуногистохимического анализа гены, мутации в которых приводят к ФХЦ/ПГ, предложено разделить на два основных кластера. К первому кластеру относят мутации генов, вызывающие нарушение работы цикла Кребса (*SDHx*, *FH*, *MDH2*, *IDH*, *GOT2*, *SLC25A11* и *DLST*) и генов гипоксического сигнального пути (*PHD1/2*, *VHL*, *HIF2A/EPAS1* и *IRP1*). Второй кластер представлен генами киназного сигнального пути (гены *RET*, *NF1*, *HRAS*, *TMEM127*, *MAX*, *FGFR1*, *Met*, *MERTK*, *BRAF* и *NGFR*). Очевидно, что не только мутации в вышеуказанных генах, но и изменение их экспрессионного профиля может приводить мутантному фенотипу.

Целью исследования является разработка генетической панели для скрининга экспрессии генов, участвующих в патогенезе ФХЦ/ПГ. Эта панель будет полезна не только как дополнительный метод диагностики, но и как инструмент персонализированного подхода к дальнейшей тактике ведения пациента, а также для обследования родственников пациентов.

В ходе проведенного исследования методом ПЦР в реальном времени были проанализированы профили экспрессии генов, входящих в два основных кластера генов, ассоциированных с ФХЦ, в клетках крови. В исследовании контрольной выборки была выделена группа из 20 генов со стабильной экспрессией и с невысоким разбросом значений экспрессии, которые были включены в состав таргетной панели. В группе пациентов с диагнозом ФХЦ было осуществлено генотипирование отдельных пациентов с ФХЦ с выраженной клинической картиной, а также двух пациентов с ФХЦ, ассоциированной с нейрофиброматозом 1 типа, по выборочным генам-кандидатам. Проведен корреляционный анализ с целью установления возможных взаимодействий и регуляторных сетей генов, задействованных в патогенезе.



Моделирование воздействия на биологические эффекты фактора некроза опухоли посредством РНК-интерференции ММП9 при псориазе

А. В. Мезенцев¹, Ю. А. Могулевцева², С. А. Брускин³

¹ Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН

² ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева

³ ФГБУН Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова Российской академии наук

mav1776a@yandex.ru

Введение: Уровень матричной металлопротеиназы 9 (ММП9) сильно повышен в пораженной псориазом коже. При псориазе секреция ММП9 стимулирует миграцию иммунных клеток. Она необходима для активации ряда провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , TNF α и др.). Нарботка ММП9 также приводит к структурным перестройкам эпидермиса с образованием псориазных бляшек. Фактор некроза опухоли (TNF α) — один из наиболее эффективных медиаторов острой фазы воспаления. Активация TNF α при псориазе стабилизирует воспалительный процесс и координирует взаимодействие иммунных клеток с резидентными клетками кожи. Хронологически TNF α был первой молекулярной мишенью терапевтических антител. Блокада TNF α позволила добиться ремиссии у ~70% пациентов. РНК-интерференция — природный механизм для эффективного ингибирования трансляции. Участвующие в ней малые ингибирующие РНК (миРНК) — закодированы в геноме, а синтетические миРНК (Patisiran, Givosiran, Lumasiran и Inclisiran) уже используются для лечения наследственных заболеваний.

Целью проведенного исследования было оценить клинический потенциал миРНК специфичной к ММП9 при псориазе в рамках проводимых доклинических исследований.

Методы: Изменения генной экспрессии анализировали методом количественной ПЦР. Для оценки активности ММП9 использовали метод зимографии. Оценку скорости пролиферации эпидермальных кератиноцитов (HaCaT) проводили путем сопоставления кривых роста культивируемых клеток.

Результаты: В работе показан антипролиферативный эффект в присутствии TNF α — РНК-интерференция достоверно снижает скорость пролиферации культивируемых эпидермальных кератиноцитов в 1.5 раза. При этом экспрессия целевого гена снижается на 90%, а общая активность ММП9 — до 44%. Несмотря на присутствие TNF α в культуральной среде, возрастает экспрессия эпидермальных цитокератинов: KRT1 (3.06 ± 0.17), KRT5 (4.45 ± 1.21), KRT10 (1.13 ± 0.02) и KRT14 (1.21 ± 0.03), что важно для их дифференцировки. Экспрессия структурных белков эпидермиса также увеличивается: IVL (2.55 ± 0.03), LOR (5.31 ± 0.55) и FLG (4.53 ± 0.22). Экспрессия маркера пролиферации МК167 — снижается (0.73 ± 0.06).

Заключение: Полученные изменения генной экспрессии, скорости пролиферации и ферментативной активности подтверждают возможность использования РНК-интерференции ММП9 для лечения псориаза.



Выявление регуляторных SNPs, потенциально вовлеченных в механизмы развития диабета 2 типа и ответ на метформин

Т.И. Меркулова¹, Е.Е. Корболина¹, И.С. Дамаров¹, А.О. Дегтярева¹

¹ ФИЦ ИЦиГ СО РАН, РФ, г. Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10

merkulova@bionet.nsc.ru

По данным GWAS более 90% связанных с признаком SNPs находится в некодирующих районах генома. Однако эти данные не дают информации о функциональных последствиях выявленных нуклеотидных замен, поэтому в последнее время широко развернулись работы по функциональной интерпретации результатов GWAS как на уровне отдельных регуляторных SNPs (rSNPs), так и на массовом уровне, а также возникло новое направление по разработке независимых от GWAS масштабных функциональных подходов к выявлению rSNPs, основанных на получении различных омиксных данных [1].

В рамках этого направления мы получили экспериментальные данные по профилю гистоновых модификаций H3K4me3 и H3K27ac (ChIP-seq) и определению транскриптомов (RNA-seq) в мононуклеарных клетках (PBMC) здоровых людей (N = 12) и осуществили поиск аллель-асимметричных событий в этих данных. В итоге была сформирована панель из 14796 rSNPs, расположенных в промоторных районах 5132 генов. Проведенный анализ показал, что 31% от найденных rSNPs либо непосредственно представлены в каталоге GWAS, либо локализованы в пределах ± 1000 п.о. от SNPs из этого каталога, а 67% rSNPs либо совпадают с eQTLs из данных проекта GTEx [2], либо находятся в пределах ± 1000 п.о. от них. Среди наиболее обогащенных найденными rSNPs признаков GWAS оказался диабет второго типа (СД2), что хорошо согласуется с данными о вовлеченности PBMC в его патогенез. Дополнительно мы проанализировали данные RNA-seq (GSE221521), полученные на лейкоцитах крови здоровых людей (N = 50) и лиц с СД2, страдающих диабетической ретинопатией (N = 69), а также данные RNA-seq (GSE153315) клеток крови лиц с СД2, не отвечающих (N = 10) и отвечающих на лечение метформином (N = 10). В первом случае было обнаружено 3810 rSNPs в промоторных районах 1292 из 6648 генов, дифференциально экспрессирующихся (ДЭГ) между группами, что можно рассматривать как свидетельство вовлеченности многих rSNPs из нашей панели в механизмы развития диабета и его осложнений. Во втором случае найдено 367 rSNPs в промоторных районах 131 ДЭГ между группами, отвечающих и не отвечающих на метформин, многие из которых кодируют регуляторные белки (транскрипционные факторы, хроматин-ремоделлеры, киназы и т.д.), что важно для понимания фармакогеномики этого препарата.

[1] Degtyareva A. O., Antontseva E. V., Merkulova T. I. Regulatory SNPs: Altered Transcription Factor Binding Sites Implicated in Complex Traits and Diseases // Int J Mol Sci. 2021 22(12):6454.

[2] GTEx Consortium. The GTEx Consortium atlas of genetic regulatory effects across human tissue». Science, 2020, 369, 1318–1330.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 23-15-00113.



Анализ экспрессии генов иммунного ответа в мононуклеарах крови у больных раком легкого

А.В. Минин¹, М.Л. Баканова²

¹ Кемеровский государственный университет

² Федеральный исследовательский центр угля и углехимии

vminina@mail.ru

Рак лёгкого (РЛ) занимает лидирующие места по показателям заболеваемости и смертности населения от онкологических патологий во всем мире [1]. Технология микроматричного анализа SurePrint G3 Human Gene Expression активно используется для изучения иммунного микроокружения опухолей и изучения транскриптома цельной крови у больных солидными опухолями. По результатам полнотранскриптомного анализа генерируется большой пакет данных, нуждающихся в детальном анализе. Недавно был выполнен полнотранскриптомный анализ для мононуклеаров крови у больных РЛ [2]. Экспрессия генов была изучена с помощью чипа «SurePrint G3 Human Gene Expression 8×60K Microarray Kit» (Agilent Technologies, США). Данный микрочип содержит пробы для 26,803 уникальных генов и 30,606 длинных некодирующих РНК. Микрочипы были просканированы с использованием «SureScan Microarray Scanner» (Agilent Technologies, США). Одним из важных выводов работы было заключение о существовании значимых изменений экспрессии целого ряда белок-кодирующих генов. Целью данной работы стала детализация результатов и выявление генов иммунного ответа среди групп с повышенной и пониженной экспрессией у больных РЛ по сравнению со здоровыми. Для аннотации результатов транскриптомного анализа использовались ресурсы Gene Ontology и KEGG.

В общей сложности был идентифицирован 321 ген, включая 96 генов с повышенной экспрессией и 225 с пониженной. Далее среди этих списков был проведен поиск генов, контролирующих иммунный ответ. К группе генов со сниженной экспрессией у больных РЛ, участвующих в иммунном ответе, были отнесены: *MSRB1, CEACAM3, C5AR1, PADI2, ADGRE3, CYSTM1, PYCARD, CD46, AKIRIN2, FCGR2A, FCGR2C, FCGR2B, GPER1, LY96, DDX3X, CNN2, MAPK14, DOK3, ITGAX, AP1G1, CORO1A, CXCL8, MX2, CAP1, IL6R, SIRPB1, NCF4, MGAM, RPS3, FCGR2C*. К группе генов с повышенной экспрессией были отнесены: *RASGRP1, PDCD1, BX21, KLRC1, CCL20, EZR, PRKCH, NECTIN2, GPR183, CCR7, FASLG, CCR5, CCL2, CD3G, PIK3R1, IRAK2, PDE4D, SLAMF7, GBP1, HLA-DRB5, IL1A, PDE4B, IL23A, RGCC, BTN3A2, KLRG1, CD8A, ZNF683*.

Транскрипты с дифференциальной экспрессией были представлены факторами иммунного ответа, хемокиновыми рецепторами, специфическими киназами и другими сигнальными молекулами, связанными с реакциями иммунитета (GO:0006955 immune response).

Центральная роль была определена для компонентов сигнального пути Т-клеточных рецепторов (hsa04660).

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries // *CA: A Cancer J. for Clinicians*. 2018. V. 68. № 6. P. 394–424. doi: 10.3322/caac.21492.
- [2] Minina V. I., Druzhinin V. G., Larionov A. V., Baranova E. D., Buslaev V. Yu., Matskova L. V., Bakanova M. L. Microarray-based transcriptome analysis of peripheral blood mononuclear cells in lung cancer patients // *Russian Journal of Genetics*. 2022. V. 58. № 7. P. 814–822.

Исследование выполнено в рамках соглашения о создании молодёжной лаборатории (лаборатория онкогеномики) ФИЦ УУХ СО РАН в связи с постановлением Правительства Кемеровской области-Кузбасса от 19.09.2022 № 623.



Особенности мозга *D. melanogaster* лабораторных линий *eyeless*

О.Н. Антосюк¹, А.Д. Мокроусов¹

¹ ФГАОУ ВО Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, 19, Мира,
Екатеринбург, 620002, Россия
mrks666@yandex.ru

Для понимания механизмов нейродегенеративных заболеваний необходим объект, характеризующийся быстрой сменой поколений, небольшим жизненным циклом и простотой культивирования, который позволил бы изучить сложные процессы развития организма и влияние мутаций. Под это описание подходит *Drosophila melanogaster*, которая является одним из универсальных объектов как в генетике, так и в исследовании патогенеза различных заболеваний. Актуальность работы заключается в том, чтобы понять, как линии с мутацией гена *eyeless* помогут в изучении нейродегенераций зрительной системы, что, при дальнейшей экстраполяции исследований на человека, помогло бы расширить понимание механизмов возникновения патогенеза, а также подбора действенной терапии.

Целью работы является охарактеризовать линии *eyeless D. melanogaster* в отношении реализации гена *eyeless* в онтогенезе.

В эксперименте использовали гистологические препараты мозга *D. melanogaster* линий *eyeless lux*, *eyeless superlux* и *Canton-S*. Была подобрана методика подготовки пробы, изготовление блоков, их покраска по гематоксилин-конго красный и фиксация препаратов.

Проанализировали слой нейральных клеток мозга по 4 маркерам, вакуолизацию мозга, а также площадь мозга, выделили площадь протоцеребральной части, а также левой и правой зрительных областей. Замеры площади проводили в программе ImageJ.

Определили, что мозг особей мутантных линий *eyeless D. melanogaster* претерпевает редукцию размера зрительных областей, истончение слоя нейральных клеток. Зарегистрировали повышенный уровень интенсивности вакуолизации.



Первые результаты пилотного проекта по комплексному генетическому обследованию пар с невынашиванием беременности на раннем сроке

Ю. А. Насыхова¹, З. Н. Тонян¹, М. М. Данилова¹, Н. М. Двойнова¹, Т. Е. Лазарева¹, Е. М. Максютенко¹,
Ю. А. Барбитов¹, О. В. Малышева¹, А. А. Михайлова¹, А. С. Глотов¹

¹ ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта», Санкт-Петербург

yulnasa@gmail.com

Невынашивание беременности является самым распространенным осложнением первого триместра беременности и представляет собой серьезную проблему современного акушерства. Частота невынашивания составляет 10–20% от всех беременностей. Прерывание беременности на ранних сроках часто возникает вследствие патологий эндокринной системы, генетических нарушений или воспалительных процессов. В 2023 году в ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта» был запущен пилотный проект по дополнительному обследованию супружеских пар для установления хромосомных и / или генных нарушений, не выявленных при рутинном обследовании, которые могли стать причиной невынашивания беременности. В проект была включена 41 семья с прерыванием беременности на сроке до 13 недель. В данных семьях для плода был установлен эуплоидный кариотип по результатам стандартного цитогенетического исследования. В рамках пилотного проекта было выполнено генетическое обследование, которое включало в себя анализ хромосомных аномалий в материале тканей плода методом сравнительной геномной гибридизации, поиск генных вариантов, ответственных за остановку развития беременности, в ДНК плодового материала и ДНК супружеской пары (трио) методом полноэкзомного секвенирования, а также медико-генетическое консультирование по результатам генетических исследований.



Изучение локализации мутантной мРНК методом флуоресцентной гибридизации *in situ* на изогенной модели болезни Гентингтона с индуцибельной экспрессией участка гена *HTT*, содержащего CAG-повторы разной длины

Ю.А. Островская^{1, 2}, Л.Д. Беликова¹

¹ Лаборатория клеточной биологии ФНКЦ ФХМ им. Ю.М. Лопухина, Москва

² Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова

ssem357@mail.ru

Введение: Болезнь Гентингтона (БГ) — это нейродегенеративное заболевание, вызванное селективной гибелью проекционных срединно-шипиковых нейронов стриатума. Причиной БГ является экспансия CAG-повторов в первом экзоне гена *HTT*, что приводит к аномальному удлинению полиглутаминового тракта в белке гентингтине. Экспансия CAG-повторов в кодирующей части гена *HTT* может приводить к приобретению несвойственных патогенных функций как белком гентингтином, так и транскриптами гена *HTT*. Например, удлинённые CAG-повторы в мутантной мРНК обладают способностью формировать стабильные шпилечные структуры, которые могут секвестрировать на себя некоторые РНК-связывающие белки или провоцировать клеточный антивирусный ответ, вызываемый присутствием в клетке дуплексов РНК.

Цель исследования — изучение молекулярных аспектов патогенеза БГ, связанных с мутантной мРНК, с использованием клеточной модели.

Материалы и методы: С помощью лентивирусной трансдукции были созданы изогенные линии нейробластомы человека SHSY5Y с доксициклин-индуцибельной гиперэкспрессией фрагмента гена *HTT*, содержащего три первых экзона (*HTT_{ex1,2,3}*). Созданные линии SHSY5Y отличаются по числу CAG-повторов в трансгене *HTT_{ex1,2,3}* (17 и 108). Для подтверждения функциональности полученной клеточной модели БГ была проведена количественная ОТ-ПЦР, а также выполнено иммуоцитохимическое (ИЦХ) окрашивание с антителами против полноразмерного гентингтина и против N-концевого фрагмента гентингтина, афинными к мутантной форме белка и внутриклеточным агрегатам гентингтина. Для изучения локализации мРНК, содержащей CAG-тракт, использовали РНК-FISH с олигонуклеотидной LNA-содержащей пробой с последовательностью (C+TG)₁₀.

Результаты: Показано, что при индукции доксициклином экспрессия трансгена *HTT_{ex1,2,3}* возрастает в сотни раз по сравнению с трансгенными клетками SHSY5Y без индукции и исходными клетками SHSY5Y. Проведенное спустя 14 дней после индукции ИЦХ окрашивание трансгенных SHSY5Y демонстрирует накопление агрегатов гентингтина, особенно в линии с 108 CAG-повторами в трансгене *HTT_{ex1,2,3}*.

В полученных линиях методом РНК-FISH была изучена локализация мРНК, содержащей длинные тракты CAG-повторов. В линии со 108-ю CAG-повторами при индукции доксициклином были обнаружены клетки, ядра которых содержали фокусы гибридизации с CTG-пробой, что не было задетектировано в интактных клетках и линиях с 17-ю CAG-повторами.

Выводы: На основе линии нейробластомы человека SHSY5Y получена изогенная клеточная модель БГ с индуцибельной гиперэкспрессией участка гена *HTT* с разным числом CAG-повторов. Полученная модель может быть использована для изучения роли мутантной мРНК в патогенезе БГ.



Взаимодействия полиморфизмов вариантов генов факторов свертываемости крови и врожденного иммунитета и их влияние на тяжесть течения COVID-19

А.В. Рогачева¹, Л.В. Гутникова¹

¹ Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

anapostana@gmail.com

Введение. Патогенез и клинические проявления коронавирусной инфекции COVID-19 характеризуются процессами нарушения гемостаза и реакциями врожденного иммунитета. Инфекция SARS-CoV-2 приводила к широкому спектру исходов, от бессимптомной инфекции до тяжелой вирусной пневмонии. Наличие коронавирус-индуцированных коагулопатий у пациентов значительно повышало риски возникновения тяжелой формы течения заболевания и летального исхода.

Цель. Изучить межгенные взаимодействия полиморфных локусов генов *F2* rs1799963, *F5* rs6025, *IL10* rs1800872 и *NOD2* rs2066845 у пациентов с разной степенью тяжести COVID-19.

Материалы и методы. В рамках данного исследования было генотипировано 256 пациентов в возрасте от 38 до 72 лет. Исследование проводилось в медицинском центре «Наука» (Ростов-на-Дону). Все пациенты с целью проведения анализа были разделены на две группы с легким и тяжелым течением болезни согласно «Временным методическим рекомендациям «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия от 22.02.2022», утвержденным Минздравом России». Для каждого полиморфизма проводилась аллель специфическая ПЦР-РТ, для ген-генных взаимодействий использовали ПО MDR v.3.0.2.

Результаты. Проведенный MDR-анализ показал, что следующие сочетания генотипов ассоциированы с повышенным риском развития тяжелой формы заболевания COVID-19, ассоциированы следующие модели:

*NOD2*rs2066845*GG x *F2*rs1799963*GA; *NOD2*rs2066845*GG x *IL10*rs1800872*CA; *NOD2*rs2066845*GG x *IL10*rs1800872*AA (двухлокусная модель, точность модели = 0,64; $\chi^2 = 6,233$; $p = 0,0125$).

Трехлокусная модель сочетаний повышенного риска: *NOD2*rs2066845*GG x *F5*rs6025*GG x *F2*rs1799963*GA (точность модели = 0,69; $\chi^2 = 4,85$; $p < 0,02$).

Выводы. Результаты анализа свидетельствуют о том, что сочетания гомозиготного генотипа *NOD2*rs2066845*GG с генотипами, несущими один и более минорный аллель генов *F2*rs1799963*GA; *IL10*rs1800872*CA и *IL10*rs1800872*AA, ассоциированы с риском развития тяжелой формы коронавирусной инфекции COVID-19. Широкая изменчивость, наблюдаемая в тяжести и прогнозе заболевания, позволяет предположить, что генетические факторы хозяина играют ключевую роль в иммунных реакциях против вируса.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки в рамках госзадания № FENW-2023-0018.



Особенности фенотипа штамма *C. elegans*, несущего аминокислотную замену, гомологичную H1069Q в гене болезни Вильсона (БВ)

П.Д. Самусева¹, А.Д. Щукина², Ф. Каталано³, А.А. Мехова⁴

¹ а) ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; б) СПб политехнический университет Петра Великого;
в) ИТМО Университет

² а) СПб политехнический университет Петра Великого
б) ИТМО Университет

³ Институт медицинской генетики, Неаполь, Италия

⁴ СПб политехнический университет Петра Великого

samusevap@yandex.ru

БВ — аутосомно-рецессивное наследственное нарушение метаболизма меди, вызываемое мутациями в гене *ATP7B*, кодирующим медь-транспортную АТФазу. БВ характеризуется нарушением выведения меди (Cu) из организма и ее накоплением в печени и мозге, сопровождающимся развитием цирроза и нейродегенерации. Изучение БВ и поиск мишеней для ее терапии осуществляют на мышах с нокаутом гена *Atp7b*(-/-) и крысах инбредной линии LEC, несущих мутацию в гене *ATP7B*. Однако исследования на нематоде — генетически более простой животной модели, могут способствовать лучшему пониманию первичных базовых механизмов развития БВ и более эффективному поиску целевых лекарств. В работе с помощью технологии CRISPR/Cas9 в ген *cuu-1* (ортолог гена *ATP7B* млекопитающих) *C. elegans* внесена мутация, вызывающая замену H828Q, аналогичную замене H1069Q в *ATP7B*, которая является самой распространенной в кавказской популяции пациентов с БВ. В присутствии Cu от 25 до 100 мкМ у *C. elegans* H828Q, по сравнению с диким штаммом N2, достоверно и дозозависимо снижались скорость развития, объем кладки яиц, подвижность и продолжительность жизни. При этом разница в накоплении Cu между обоими штаммами отсутствовала. В то же время нематоды H828Q, в отличие от N2, активно накапливали серебро (Ag^{1+}), диссоциирующее с поверхности наночастиц (НЧС), которые используют как абиогенные изоэлектронные аналоги Cu^{1+} , интегрирующиеся в метаболическую систему Cu. НЧС в концентрации 0.5 мкМ достоверно снижали скорость развития, подвижность и продолжительность жизни у нематод H828Q, не оказывая эффекта на нематод N2. Эффект НЧС был тем выше, чем на более раннюю стадию развития они воздействовали. В тесте избегания рекомбинантный N-концевой эктодомен CTR1, высоко аффинный импортер Cu человека (NdCTR1), связывающий Cu^{1+} , Cu^{2+} и Ag^{1+} , снижал чувствительность штамма H828Q к НЧС. По данным ПЦР в реальном времени уровень экспрессии генов метаболизма Cu на разных стадиях жизненного цикла одинаков у обоих штаммов. В работе обсуждается соответствие штамма H828Q требованиям, предъявляемым к модели БВ, и возможность использования NdCTR1 в качестве природного хелатора Cu.

Работа поддержана грантом РНФ 20-74-10087.



Роль полиморфизма гена *p53* в патогенезе острого панкреатита

Д. И. Сидоров¹, В. А. Трофимов¹

¹ Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва, г. Саранск
densid789@gmail.com

Введение: P53 функционирует в качестве активатора транскрипции и представляет собой белок-сенсор стресса. P53 участвует как в реакции апоптоза, способствующей гибели клетки, так и в реакции выживания, заключающейся в остановке клеточного цикла и репарации ДНК. Если присутствует мутация, p53 может не только потерять свою нормальную способность супрессировать опухоль и приобретать доминантно-негативную активность, но также приобретать новые функции, способствующие канцерогенезу.

Исследования показали, что полиморфизм Arg72Pro в трансактивационном домене белка дает две версии белка, обладающие различной биологической активностью. Вариант Pro известен своей способностью запускать эффективную репарацию ДНК, тогда как вариант Arg был связан с повышенной проапоптотической активностью. Аллель TP53 72Pro может более эффективно вызывать остановку клеточного цикла и репарацию ДНК, предотвращая трансформацию нормальных клеток (Pinarbasi et al. 2007).

Цель исследования: изучить влияние носительства полиморфизма Arg72Pro гена *p53* в патогенезе острого панкреатита.

Материалы и методы: ДНК выделяли из ядросодержащих клеток крови доноров и больных с острым панкреатитом проводили по методу Laura Lee Boodram. Для определения полиморфизмов TP53 Arg72Pro использовали наборы фирмы Синтол (Россия). Равновесие Харди-Вайнберга проверяли с использованием критерия хи-квадрат. Связь SNP с риском развития панкреатита оценивалась с использованием ОШ и 95% ДИ.

Результаты: Значения равновесия Харди-Вайнберга продемонстрировали, что данный SNP у больных с острым панкреатитом значительно отличался от значений контрольной выборки ($p = 0,003$ для TP53 rs1042522 C > G). Выявлено, что генотип C/G полиморфизма TP53 rs1042522 C > G ассоциирован с высоким риском развития острого панкреатита и прогрессирующим заболеванием (OR = 2.19, 95% CI (1.38–3.47), соответственно).

Выводы: Молекулярная диагностика, направленная на выявление носительства аллелей гена *p53*, отягощающих патогенез острого панкреатита, позволит повысить эффективность лечения с учетом генетических особенностей пациента.



Мета-анализ данных полнотранскриптомного профилирования миокарда при различных наследственных заболеваниях сердца: РНК маркеры гипертрофической кардиомиопатии

П.А. Сломинский¹, А.Б. Чумакова¹, И.Н. Власов¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт»

paslominsky@bk.ru

В настоящее время накоплен большой массив данных, полученных при полнотранскриптомном анализе тканей миокарда. Это позволило провести мета-анализ первичных данных РНК секвенирования тканей миокарда, депонированных в Gene Expression Omnibus (GEO) и полученных при биопсии у пациентов с семейной гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП), дилатационной кардиомиопатией, миокардитом, ишемической болезнью сердца и при анализе условно здорового миокарда. Для всех образцов был использован один и тот же конвейер обработки данных, включавший в себя удаление оснований низкого качества, выравнивание ридов, картирование их на геном человека, нормализацию с коррекцией батч-эффектов. Нормализованные риды были использованы для поиска дифференциально экспрессирующихся при разных заболеваниях генов (ДЭГ) и WGCNA кластеризация генов на основании коэкспрессии. На последнем этапе полученные списки ДЭГ были обогащены терминами Gene Ontology (GO) и значимо обогащённые термины были отобраны при помощи гипергеометрического теста с поправкой FDR (p .value < 0.05). В итоге было обнаружено, что сравнение транскриптома миокарда при ГКМП и условно здорового миокарда позволяет выявить более 2000 ДЭГ, которые при анализе терминов GO могут быть отнесены в первую очередь к разным аспектам воспаления и иммунного ответа. Включение в анализ других заболеваний миокарда резко снижает число ДЭГ — в ткани миокарда выявляется 192 ДЭГ, формирующих несколько кластеров GO, центральное место в которых занимает кластер «регуляция клеточной пролиферации». Среди генов этого кластера можно выделить гены рецептора апелина APLNR (связан с морфогенезом сердца), аквапурина AQP1 (пассивный транспорт воды по осмотическому градиенту), CNOT6 каталитической субъединицы транскрипционного комплекса CCR4-NOT (регуляция транскрипции, в том числе мРНК).

Выявление специфичных для ГКМП изменений экспрессии было подтверждено при WGCNA анализе координированной экспрессии генов при сравнении миокарда при ГКМП и других заболеваниях сердца.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 22-15-00243).



Пренатальная диагностика Мукополисахаридоз-плюс синдрома

В.М. Софронова¹, Л.В. Готовцева², А.Л. Сухомясова¹, Н.Р. Максимова¹

¹ Северо-Восточный Федеральный университет, НИЛ «Молекулярная медицина и генетика человека»

² Республиканская больница № 1 – Национальный Центр Медицины

viksofmax92@gmail.com

Введение: Мукополисахаридоз-плюс синдром (МПСПС) — это аутосомно-рецессивное заболевание, вызванное с.1492С>Т (р. R498W) в гене *VPS33A*. Все пациенты с МПСПС были диагностированы после рождения. Заболевание тяжелое с короткой продолжительностью жизни около 20 месяцев. Диагностика МПСПС основывается на клинических проявлениях и молекулярно-генетическом подтверждении патогенетического варианта. В настоящее время не существует специфического лечения для пациентов. В мире из 21 пациента 17 пациентов были из якутской популяции. Частота гетерозиготного носительства среди якутской популяции высокая — 1:81. В связи с высокой частотой носительства пилотная версия генетического скрининга была внедрена. В данном исследовании мы изучили два пренатальных случая, в одном из которых был поставлен пренатальный диагноз МПСПС.

Материалы и методы: ретроспективный анализ медицинских карт с пренатальным случаем МПСПС. Периферическая кровь была взята для молекулярно-генетического анализа, который проводился с помощью ПЦР реального-времени на CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System. Ультразвуковое исследование (УЗИ) проведено с помощью Voluson™ E8 Expert. **Результаты:** Родословная беременных женщин не была отягощена по МПСПС. Во время беременности обе женщины проходили пренатальное УЗИ, которое выявило увеличение толщины пренатальных тканей (ТПК) во втором триместре. В первом случае УЗИ показало увеличение ТПК, но причина МПСПС еще не была установлена на тот момент. В итоге после рождения, в возрасте 11 месяцев, у ребенка был диагностирован МПСПС по клиническим проявлениям. Во втором случае, после обнаружения ТПК и увеличения шейной складки у плода по УЗИ, семейная пара прошла генетический скрининг на гетерозиготное носительство варианта с.1492С>Т (р. R498W) в гене *VPS33A*. В результате скрининга оба родителя были гетерозиготными носителями данного варианта. В связи с этим была проведена инвазивная пренатальная диагностика (плацентоцентез). В результате исследования был выявлен вариант с. 2С>Т (р. R498W) в гене *VPS33A* в гомозиготном состоянии.

Заключение: Данное исследование подчеркивает важность использования генетического скрининга в популяциях с высокой частотой носительства патологических вариантов. Сочетание пренатального УЗИ с генетическим скринингом может стать ценным подходом для диагностики МПСПС на ранних стадиях.



Разработка подхода для детекции мультимерных форм пептида Аβ человека в чрезвычайно малых концентрациях

Ю.К. Стюфляева^{1,2}, А.А. Зелинский¹, А.А. Рубель¹, О.А. Маликова¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

² Национальный исследовательский университет ИТМО, Санкт-Петербург

styuflyaeva@scamt-itmo.ru

Болезнь Альцгеймера (БА) — это нейродегенеративное заболевание, являющееся наиболее распространенной формой деменции. Как правило, заболевание выявляется у людей старше 65 лет и характеризуется длящимся годами ухудшением состояния, с потерей способности к самостоятельной жизнедеятельности и, в конечном итоге, смертью. На данный момент не существует эффективных методов лечения и внедрённых в практику подходов для ранней диагностики БА, поэтому разработка таких методов является актуальной задачей.

Существует несколько гипотез возникновения БА. Однако ведущей является амилоидная гипотеза, в соответствии с которой основным фактором, приводящим к развитию заболевания, является процесс патологической агрегации пептида Аβ. Поэтому одним из наиболее перспективных подходов для диагностики БА является детекция амилоидной формы пептида Аβ на ранних стадиях, до появления клинических симптомов.

В данной работе мы адаптируем методику РМСА (циклическая амплификация амилоидного белка) [1] для обнаружения крайне малых количеств мультимеров пептида Аβ в биологических жидкостях организма, таких как кровь и лимфа.

Одной из основных проблем, при амплификации пептида Аβ с помощью метода РМСА, является высокая спонтанной агрегацией мономеров пептида Аβ *in vitro*, что приводит к появлению ложноположительных результатов. Для решения этой проблемы мы получили генетические конструкции, кодирующие различные мутантные варианты пептида Аβ₄₂ со сниженной способностью к агрегации, а также конструкции, в которых мутантные варианты Аβ₄₂ слиты с последовательностью SUMO. Продукцию рекомбинантных белков осуществляли в штамме *E.coli* Rosetta, очистку белков проводили при помощи металл-аффинной хроматографии. Кинетику спонтанной агрегации вариантов Аβ₄₂ анализировали методом флуориметрии с использованием амилоид-специфичного красителя тиофлавин Т. В настоящее время мы исследуем динамику агрегации вариантов Аβ₄₂ в присутствии агрегатов Аβ₄₂ дикого типа.

Полученные результаты помогут разработать эффективную систему детекции мультимерных форм пептида Аβ в крови в чрезвычайно малых концентрациях и в перспективе могут быть использованы для разработки метода ранней диагностики БА.

[1] *Castilla J., Saá P., Soto C.* Detection of prions in blood. *Nat. Med.* 11, 2005. 982–985. doi: 10.1038/nm1286.

Работа выполнена при поддержке Санкт-Петербургского государственного университета (проект № 95444727). В работе использовали приборные базу РЦ «РМиКТ» и РЦ «Хромас» Научного парка СПбГУ.



Частота аллеля –772А гена *FUT2*, ассоциированного с невосприимчивостью к *Helicobacter pylori*, в выборках якутов и русских Восточной Сибири

Л.Э. Табиханова¹, Л.П. Осипова¹, Т.В. Чуркина¹, Д.В. Личман¹, Е.Н. Воронина², М.Л. Филипенко²

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск

ludahan@mail.ru

Ген *FUT2* кодирует α-1,2-фукозил-трансферазу — фермент, модифицирующий олигосахариды в кишечнике, являющиеся субстратом для микрофлоры. Состояние полиморфного локуса G772A rs602662 влияет на активность фермента *FUT2*: секреторным является вариант –772G, а аллель –772A — не секреторный, –772G ассоциирован с восприимчивостью к *Helicobacter pylori*, в то время, как –772A имеет протективное действие в отношении возникновения клинических симптомов при заражении [1]. Примерно 20% населения в мире являются носителем нефункционального аллеля –772A, при этом существуют межпопуляционные различия. В Восточной Азии менее 2% жителей имеют в генотипе –772A, а в странах Европы их доля составляет 30–50% [2]. В литературе нам не встретились данные по частотам полиморфных вариантов гена *FUT2* в коренных популяциях Сибири, поэтому исследования в этой области продолжают оставаться актуальными.

Материалом настоящего исследования послужили выборки якутов п.п. Бейдинге и Дюся Усть-Алданского улуса Республики Саха (Якутия) (N = 123) и русских Восточной Сибири (N = 153). Методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени определены частоты полиморфных вариантов, обусловленных однонуклеотидной заменой G772A (rs602662) гена *FUT2*. Полученные показатели сравнены с литературными. Частота протективного несекреторного аллеля –772A в выборке русских (34%) соответствует данным для европеоидов. У якутов она статистически значимо ниже — 7,3%, что может свидетельствовать о повышенном риске патологий ЖКТ при инфицировании *H. pylori*. В соответствии с общим географическим градиентом распределения этого варианта, частота его в якутской выборке находится в промежуточном положении между европеоидами и популяциями Восточной Азии.

Исследование выполнено в рамках государственного задания ИЦиГ СО РАН (№ FWNR-2022-0021).

[1] Currier R., Payne D., Staat M., Selvarangan R., et al. Innate susceptibility to norovirus infections influenced by *FUT2* genotype in a United States pediatric population // *Clin. Infect. Dis.* 2015; 60: 1631–1638. DOI: 10.1093/cid/civ165.

[1] The 1000 Genomes Project Consortium. An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes // *Nature*. 2012;491(7422):56–65. DOI: 10.1038/nature11632.



Систематическое сравнение генетических эффектов в биобанке Британии (UKB) и FinnGen для выявления детерминантов воспроизводимости ассоциаций

А.А. Ткаченко¹, А.И. Чангалиди², Е.М. Максютенко¹, Ю.А. Насыхова¹, Ю.А. Барбитов¹, А.С. Готов¹

¹ ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта», Санкт-Петербург 2 Университет ИТМО, Санкт-Петербург
aatkachenko@itmo.ru

За последние два десятилетия проведено множество полногеномных исследований ассоциаций (GWAS, genome-wide association study), которые позволили лучше понять генетическую архитектуру сложных признаков человека. Хотя GWAS зарекомендовал себя как метод с высокой воспроизводимостью, все чаще проводятся исследования ассоциаций с привлечением когорт из разных популяций, а также мета-анализы для анализов ассоциаций в разных популяциях. Особым преимуществом исследований ассоциаций для нескольких популяций является идентификация локусов риска для сложных признаков и заболеваний, которые могут служить для прогнозирования геномного риска в неисследованных популяциях. Систематический анализ воспроизводимости результатов GWAS в масштабе всего фенома ранее не проводился, поэтому мы провели сравнение результатов GWAS для 679 сложных признаков в когортах биобанка Британии (UKB) и FinnGen (FG). Мы идентифицировали 37 148 локусов с полногеномными ассоциациями хотя бы в одной из когорт либо в мета-анализе, только 3528 (9,5%) из которых были общими для UKB и FG. Среди оставшихся 15 855 воспроизводились в мета-анализе данных UKB и FG на полногеномном уровне значимости. Для 11 695 локусов воспроизводимость между биобанками не была обнаружена. Более того, 6 598 локусов наблюдались как значимые ассоциации только в результатах мета-анализа, что подчеркивает важность проведения мета-анализов между биобанками. Мы показали, что варианты, которые не воспроизводились в UKB или FG, как правило, соответствуют редким, менее плейотропным вариантам с меньшим размером эффекта и более низкими значениями оценки LD score. Полногеномные ассоциации, специфичные для мета-анализа, также были обогащены вариантами с низким эффектом, однако такие варианты, как правило, были более распространены и имели более постоянные частоты у разных популяций. В совокупности наши результаты подчеркивают ключевые свойства генетических вариантов, которые определяют воспроизводимость полногеномных ассоциаций в исследованиях ассоциаций в между биобанками.



CNV, ассоциированные с нарушениями психомоторного развития, как возможная причина эмбриональной гибели

Д.А. Федотов¹, А.А. Кашеварова¹, Н.А. Скрябин¹, М.Е. Лопаткина¹, О.Ю. Васильева¹, Е.Н. Толмачева¹,
Г.В. Дроздов¹, Е.О. Беляева¹, Л.И. Минайчева¹, В.В. Петрова¹, Е.Г. Равжаева¹, О.А. Салюкова¹,
В.М. Сивоха¹, С.В. Фадюшина¹, Г.Н. Сеитова¹, Л.П. Назаренко¹, И.Н. Лебедев¹

¹ НИИ медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, Россия, Томск,
Наб. р. Ушайки, 10, 634050

dmitry.fedotov@medgenetics.ru

Связь между наличием спонтанных аборт (СА) у матери и рождением у нее ребенка с нарушениями психомоторного развития (НПР) активно обсуждается в литературе. В качестве возможных причин могут выступать генетические факторы. Учитывая накопленные данные о частоте одних и тех же вариаций числа копий участков ДНК (CNV) среди СА, плодов с пороками развития, пациентов с НПР и у мужчин с бесплодием, примером таких факторов могут выступать CNV. Целью исследования явилось установление общности и особенностей CNV, связанных с СА в семьях, имеющих ребенка с НПР. Выборка 1419 пациентов с НПР обследована на микрочипах SurePrint G3 Human CGH Microarray Kit, 8×60K. У 251 индивида выявлено по одной патогенетически значимой CNV. Некоторые варианты верифицированы с помощью ПЦР в реальном времени ($n = 79$). CNV классифицированы по клинической значимости — патогенные (P-CNV) и с неопределенной значимостью (VUS-CNV). Для матерей проанализирован акушерский анамнез. Сформированы четыре подгруппы — с CNV и СА ($n = 48$), с CNV и без СА ($n = 203$), без CNV и с СА ($n = 39$), без CNV и СА ($n = 279$). Впервые показано, что патогенетически значимые CNV чаще встречаются в семьях, имеющих ребенка с НПР и СА ($p = 0,02$). Выявлены 111 делеций (группа с СА — 21, без СА — 90) и 140 дупликаций (группа с СА — 27, без СА — 113). Группа с СА включала 16 P-CNV, 32 VUS-CNV. Семьи без СА — 54 P-CNV и 149 VUS-CNV. В группах с/без СА обнаружено 210 CNV размером до 1 Мб (41 и 169, соответственно) и 41 CNV протяженностью более 1 Мб (7 и 34, соответственно). Различия между группами с/без СА по копийности, клинической значимости и размеру CNV отсутствовали ($p = 0,94$, $p = 0,35$ и $p = 0,88$, соответственно). Группа с СА включала 13 унаследованных вариантов (10 — от матери, 3 — от отца) и 3 *de novo*. Группа без СА — 51 унаследованных (25 — от матери, 26 — от отца) и 12 *de novo*. Среди унаследованных вариантов наблюдается тенденция к преобладанию материнских CNV в группе с СА ($p = 0,14$). В результате анализа обогащения в группе с СА выявлено 7 значимых категорий ($p < 0,05$), ассоциированных с эмбриональным фенотипом, при этом в группе без СА таких категорий выявлено 3. Известно, что нарушение здоровья матери может быть ассоциировано как с рождением детей с НПР, так и с замершей беременностью, что, вероятно, может быть обусловлено патогенной CNV, проявляющейся на разных этапах онтогенеза в зависимости от действия дополнительных внутренних или внешних средовых факторов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 21-65-00017, <https://rscf.ru/project/21-65-00017/>.



Проведение функционального анализа для подтверждения патогенности вариантов нуклеотидной последовательности у пациентов с наследственными заболеваниями

А.Ю. Филатова¹, П.А. Спарбер¹, К.А. Давыденко¹, Ю.В. Вяхирева¹, Д.Б. Акимова¹, Е.В. Татарский¹,
Е.А. Осипова¹, М.Ю. Скоблов¹

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»

maacc@yandex.ru

Мотивация и цели. На сегодняшний день в мире более половины пациентов с моногенными заболеваниями не получают молекулярно-генетического диагноза после проведения ДНК-диагностики. С одной стороны, это обусловлено выявлением большого количества вариантов нуклеотидной последовательности (ВНП) неясной клинической значимости, а с другой — недостаточностью знаний о молекулярных механизмах патогенеза наследственных заболеваний. Поэтому зачастую подтвердить патогенность выявленного у пациента варианта нуклеотидной последовательности можно только в результате проведения экспериментальной проверки его влияния на функцию конкретного гена, чему и посвящена данная работа.

Методы. В ходе работы применялся широкий спектр молекулярно-биологических методов, включая культивирование первичных фибробластов клеток кожи, выделение РНК, проведение ОТ-ПЦР, секвенирование (в том числе и NGS), создание плазмидных конструкций, трансфекция эукариотических клеточных линий, проведение люциферазного теста, вестерн-блота и иммуноцитохимических исследований.

Результаты. В результате работы были разработаны и применены молекулярные системы для исследования патогенности ВНП на различных этапах экспрессии генов. Для исследования вариантов, влияющих на сплайсинг, применялись система экспрессии минигенов, а также анализ структуры и экспрессии мРНК в доступном биоматериале пациентов. В ходе работы мы проанализировали несколько сотен таких вариантов, выявленных у пациентов с различными заболеваниями (включая, врожденную аниридию, дистрофинопатии, синдром Драве, дилатационная кардиомиопатия и др.), и смогли определить их роль в развитии фенотипа. Также нами исследованы ВНП, расположенные в 5'-нетранслируемых областях. С использованием люциферазного теста на примере нескольких генов (PAX6, NF1 и др.) показано, что такие варианты могут влиять на эффективность трансляции мРНК и тем самым приводиться к развитию заболевания. Кроме того, проведенный нами полногеномный биоинформатический анализ позволил установить список генов кандидатов, в которых варианты в 5'-нетранслируемых областях могут является причиной развития заболевания. Ещё одной группой вариантов нашего интереса являются миссенс варианты в различных генах. Применяя методики вестерн-блота и иммуноцитохимического окрашивания клеточных культур, полученных от пациентов с наследственными заболеваниями, мы оценивали экспрессию, стабильность и локализацию белковых продуктов различных генов, что в некоторых случаях позволило доказать патогенность таких выявленных в них миссенс вариантов.

Заключение: Данная работа подчеркивает важность проведения экспериментального функционального анализа для подтверждения патогенности вариантов нуклеотидной последовательности у пациентов с наследственными заболеваниями.



Комплексное генетическое и клиническое исследование как инструмент изучения репродуктивной патологии, причин и механизмов ее развития и фенотипической variability

В.Б. Черных¹, О.А. Соловова¹, Т.М. Сорокина¹, М.В. Андреева¹, С.Ш. Хаят¹, М.И. Штаут¹

¹ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр им. академика Н.П. Бочкова», Москва

chernykh@med-gen.ru

Проблема нарушений репродукции у человека является одним из высокоактуальных вопросов в науке и медицине, что обусловлено их высокой частотой, недостаточным знанием этиологии и патогенеза, причин и факторов клинической variability для многих форм. В генетический контроль развития и функции репродуктивной системы у человека вовлечено более 2 тыс. генов. Функция многих из них неизвестна или недостаточно изучена. Многочисленность изменений генома на различных уровнях в соматических и половых клетках при нарушении репродукции требует использования комплексных подходов к их изучению и диагностике. В лаборатории генетики нарушений репродукции ФГБНУ «МГНЦ» создана и пополняется биоресурсная коллекция (БРК) от пациентов с различными формами репродуктивной патологии (более 6 тыс. образцов). Совместно с другими подразделениями ФГБНУ «МГНЦ», научно-исследовательскими институтами (Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН, НИИ ФХБ имени А. Н. Белозерского МГУ, ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта», ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России и др.) и медицинскими центрами проводится работа по исследованию генетически обусловленными форм нарушения фертильности (муковисцидоз, CBAVD синдром, ПЦД, нарушения формирования пола (НФП), AZF делеции, синдромальные формы патозооспермии и др.). Определена частота и спектр аномалий аутосом и половых хромосом, микроделеций Y-хромосомы, вариантов гена CFTR у мужчин с бесплодием (азооспермией и олигозооспермией) и у фертильных российских мужчин. Исследование аномалий половых хромосом в тканях различного гистогенеза (лимфоциты, клетки буккального эпителия, фибробласты кожи, биоптаты гонад) выявило выраженную межтканевую variability клеточных клонов у пациентов с гоносомным мозаицизмом. Комплексное сперматологическое исследование позволяет оценить фертильный потенциал, как для оплодотворения естественным путем, так и с помощью экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) и других вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Неудачи программ ВРТ могут быть обусловлены генетическими причинами или факторами, что требует обязательного дополнительного медико-генетического обследования всех пар с повторными неудачными программами ЭКО. Повышенный риск генетических и эпигенетических нарушений у потомства требуют проведения обязательного медико-генетического обследования супружеских пар с проблемами репродукции, доноров гамет. Показано, что использование комплексного генетического обследования повышает эффективность обследования, особенно необходимые у пациентов с тяжелыми генетически гетерогенными формами патологии репродуктивной системы (различными формами нарушения формирования пола и полового развития, гипогонадизма, тяжелыми формами нарушения оогенеза и сперматогенеза). Комплексное сперматологическое исследование с проведением электронной микроскопии сперматозоидов (ЭМИС), исследование генома и состояния хроматина (компактизации и целостности ДНК) сперматозоидов, различных их морфологических аномалий мужских гамет, особенно эффективно для изучения причин тотальных/субтотальных, мономорфных форм атипии. Впервые выявлены у человека патогенные варианты в генах *ACTRT1*, *TEKT1*, контролирующего спермиогенез, приводящие к развитию синдромальных форм тератозооспермии, показана фенотипическая variability глобозоспермии вследствие патогенных вариантов в гене *DPY19L2*. Использование комплекса генетических (клинических, цитогенетических, молекулярно-цитогенетических и молекулярно-генетических), цитологических и молекулярных методов с исследованием соматических клеток разного гистогенеза и половых клеток позволяет более эффективно оценивать различные генетические изменения, диагностировать генетически обусловленные формы репродуктивной патологии.



Применение молекулярно-генетических методов для выявления биоразнообразия микробиоты у лиц с метаболическими нарушениями

П. А. Чижков¹, В. Н. Калаев¹

¹ ФГБОУ ВО ВГУ, Воронеж

svlagutina97@mail.ru

Выявление кишечной микробиоты является вспомогательным маркером в диагностике заболеваний, в том числе и метаболического профиля. Целью работы стала оценка биоразнообразия микробиоты кишечника с помощью 16S-rПНК генетического секвенирования. В исследовании приняли участие 40 человек (20 — соматически здоровые лица, 20 — пациенты с ожирением различной степени тяжести). Материалом для секвенирования служили образцы кала, полученные от пациентов. После выделения ДНК из биоматериала был проведен анализ бактериального биоразнообразия кишечного микробиома методом генетического секвенирования на платформе Ion Torrent PGM с дальнейшим ПЦР и биоинформатическим анализом. При оценке родового состава исследуемых групп было выявлено увеличение представителей *Prevotella* ($Me = 9,53\%$ — у контрольной группы, $Me = 20,3\%$ — у исследуемой группы (различия достоверны $p = 0,012$)), *Roseburia* ($Me = 1,1\%$ — контроль; $Me = 3,2\%$ опыт (различия достоверны $p = 0,0049$)), *Subdoligranulum* ($Me = 1,56\%$ — контроль, $Me = 6,23\%$ — опыт (различия достоверны $p = 0,005$)), *Catenibacterium* ($Me = 1,9\%$ — контроль, $Me = 3,1\%$ — опыт (различия достоверны $p = 0,012$)). В ранее проведенных исследованиях было показано, что увеличение численности данных бактерий коррелировало с наличием метаболических нарушений. Известны случаи влияния *Subdoligranulum* на липидный обмен и развитие ожирения. Влияние *Catenibacterium* ассоциировано с использованием глюкозы для производства уксусной, молочной, масляной и изомаляной кислот, что является важным для формирования метаболического профиля, влияет на ферментативную систему, сопровождается развитием инсулинорезистентности и нарушения толерантности к глюкозе. Таким образом, оценка биоразнообразия микробиоты кишечника как объекта генетических исследований с определением ведущих кластеров на уровне родо-видовой принадлежности микроорганизмов может являться вспомогательным инструментом диагностики соматических патологий. Влияние микробиоты и ее активных метаболитов может способствовать изучению новых патогенетических взаимодействий, а также коррекции возникших патологических состояний.



Роль генетических вариантов генов, кодирующих белки дофаминергической и холецистокининергической систем, в патогенезе панических расстройств пациентов Московского региона

С.С. Шепталина¹, З.Г. Кокаева¹, О.И. Рудько¹

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

sheptalinas@gmail.com

Панические расстройства (ПР) являются распространенным хроническим, многофакторным заболеванием. Для данного расстройства характерны многократно повторяющиеся панические атаки, которым предшествует приступ тревожности. Распространенность ПР оценивается в 1–3%, при этом женщины подвержены этому заболеванию в два раза чаще, чем мужчины (Eaton et al., 1994).

Панические атаки включают в себя ряд повторяющихся вегетативных симптомов: тахикардию, ощущение нехватки воздуха и удушья, потливость, головокружение, сдавливание в груди, нарастающий страх смерти и потери сознания, ощущение нереальности происходящего. Наличие этой болезни сильно снижает качество жизни пациентов. Считается, что проявление ПР связано как с генетическими, так и социальными и экологическими факторами. В связи с развитием методов полногеномных исследований удалось выявить множество новых генов — кандидатов, однако задача их верификации и установление степени риска в связи с развитием заболевания у различных популяций остается актуальной задачей.

Цель данного исследования: разработка способа молекулярно-генетической диагностики предрасположенности к паническому расстройству с помощью молекулярно-генетических маркеров на основе полиморфных вариантов генов *DBH*, *DRD1*, *DRD2*, *DRD3*, *ССК*, *ССAR*, *ССАВR*, *СОМТ*.

Для исследования были использованы 114 образцов цельной крови больных ПР. Данные образцы были получены в Лаборатории неврологии и клинической нейрофизиологии НИЦ Первого МГМУ им. И. М. Сеченова. Возраст пациентов составил от 22 до 62 лет. Все пациенты предварительно прошли обследование у эндокринолога, терапевта, кардиолога и психолога. Объем контрольной выборки — 180 человек, жителей Москвы и Московской области. Выделение ДНК было проведено из образцов цельной крови с помощью наборов с магнитными частицами Magna™ DNA Prep 200 (ООО «Лаборатория ИзоГен», Москва). Анализ генов проводился при помощи методов, основанных на полимеразной цепной реакции (ПЦР): ПЦР, ПЦР-ПДРФ (ПЦР и полиморфизм длин рестрикционных фрагментов), ПЦР-RealTime (ПЦР в режиме реального времени), SNaPshot (Генотипирование однонуклеотидного полиморфизма с использованием аллель-специфической ПЦР и флуоресценции кривых плавления).

Для выбранных генов были проанализированы частоты генотипов исследованных выборок. В качестве сравнения использовались группа больных с установленным паническим расстройством и группа здоровых (популяционный контроль).

Впервые на российской популяции показано влияние полиморфных вариантов генов дофаминергической и холецистокининергической систем *DBH* rs1611115, *DRD1* rs5326, *DRD2* rs6275, *ССКАR* rs1800855 на развитие панических расстройств.

Выявлены комплексные генотипы, которые ассоциированы с ПР, причем наиболее сильное сочетание генотипов *DBH*: T+*DRD1*: T (шансы риска развития ПР увеличиваются в 30,21), а для генотипа *DRD2*: AA (шансы риска возникновения ПР увеличиваются в 14,46).

Полученные данные могут служить основой для новых экспериментальных исследований, а в дальнейшем для создания эффективных тест-систем для разработки индивидуального подхода к каждому случаю ПР.

Использование ДНК-диагностики позволяет определить предрасположенность к заболеванию на пресимптоматической стадии.

Конечной целью данного исследования является разработка способа выявления у человека высокого риска развития панического расстройства путем выявления у него комплекса молекулярно-генетических маркеров предрасположенности к ПР на основе анализа генотипов однонуклеотидных замен.



Разработка технологии на основе изотермической амплификации, совмещенной с детекцией дезоксирибозимами, для диагностики инфекций нижних дыхательных путей

Л.А. Шкоденко¹, В.С. Кузнецова¹

¹ ИТМО, Санкт-Петербург

shkodenko@scamt-itmo.ru

Быстрое выявление инфекций нижних дыхательных путей и определение их устойчивости к антибиотикам является залогом своевременного назначения подходящей терапии и высокой вероятности успешного лечения. Тем не менее определение устойчивости к лекарственным препаратам до сих пор остается слабым местом молекулярно-генетической диагностики. Появляющиеся в последние годы на рынке отдельные продукты для решения данной проблемы требуют дорогостоящего оснащения лабораторий и специальных навыков персонала. К тому же большинство медицинских учреждений среднего звена не имеют собственной лабораторной службы, из-за чего им приходится пользоваться услугами крупных центров, что приводит к увеличению сроков получения результата и снижению качества исследования.

Описанные проблемы указывают на необходимость разработки простого и быстрого способа диагностики возбудителей нижних дыхательных путей и выявления резистентности к антибиотикам.

Представленная работа заключается в разработке технологии, в которой скомбинированы методика изотермической амплификации LAMP (loop-mediated isothermal amplification) с последующей детекцией продуктов амплификации ДНК-наносенсорами на основе дезоксирибозимов.

В результате выполнения данного проекта были выбраны следующие патогены, вызывающие инфекции нижних дыхательных путей: *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Neisseria meningitidis*, *Acinetobacter baumannii*. Для данных патогенов были выбраны гены антибиотикорезистентности: *pbr* (*S. pneumoniae*), *blaOXA-24* (*A. baumannii*) KPC, OXA-48, NDM (*K. pneumoniae*), *pbr* (*N. meningitidis*), *blaZ*, *mecA* (*S. aureus*). Для каждого из выбранных фрагментов были подобраны праймеры для LAMP и подобраны ДНК-наносенсоры для дальнейшей детекции продуктов изотермической амплификации. Праймеры для LAMP были подобраны с помощью программы PrimerExplorer v5, для конструкции сенсоров были использованы программы Unafold и NUPACK. Ключевыми факторами при конструкции сенсоров являлись температура плавления цепей, сложность и устойчивость вторичных структур.

Было проведено тестирование реакции изотермической амплификации для каждого из выбранных фрагментов и тестирование детекции продуктов амплификации ДНК-наносенсорами. В результате были составлены оптимизированные протоколы реакций амплификации и детекции для каждого фрагмента. Была определена аналитическая чувствительность и специфичность разрабатываемого диагностического подхода.

Разрабатываемая технология в дальнейшем может стать основой для разработки диагностических тест-систем для определения широкого круга инфекций.

Работа выполняется в рамках проектов: РФФИ «Разработка point-of-care диагностической системы на основе ДНК-наносенсоров для выявления инфекций респираторного тракта и их лекарственной устойчивости», государственного задания «Point-of-care диагностика на основе ДНК-наносенсорной технологии», приоритета 2030 «Разработка платформы полного цикла для Point-of-care диагностики на основе технологии ДНК-наносенсоров».



Генная терапия миомы матки с помощью невирусной доставки суицидного гена тимидинкиназы *HSV-TK*

С.В. Штыкалова¹, А.А. Егорова¹, Н.Ю. Швед¹, А.В. Киселев¹

¹ НИИ Акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург
sofia.shtykalova@gmail.com

Миома матки (ММ) — одна из наиболее распространенных доброкачественных опухолей женской репродуктивной системы. Несмотря на доброкачественность, данное заболевание может приводить к бесплодию и осложнениям при беременности. Возможность точной ультразвуковой локализации делает данное заболевание идеальной мишенью для применения подходов генной терапии *in situ*.

Нами были разработаны пептидные носители, модифицированные лигандом к интегрину $\alpha\beta_3$, и анионное пептидное покрытие для доставки ДНК в клетки. В работе использовали клетки карциномы поджелудочной железы человека PANC-1, клеточную модель ММ и фрагменты миоматозных узлов (органотипическая модель ММ), полученные после миомэктомии.

Исследованы физико-химические свойства нуклеопептидных полиплексов с анионным покрытием. Изучена эффективность трансфекции полиплексов с анионным покрытием при различных зарядовых соотношениях в экспериментах на клетках PANC-1. Проведена трансфекция первичных клеток ММ и тканей миоматозных узлов плазмидой с геном тимидинкиназы *HSV-TK*. Проведены инъекции полиплексов с анионным покрытием, несущих плазмиду с геном *GFP*, в миоматозные узлы, с последующим анализом криотомных срезов с помощью флуоресцентного микроскопа. Для анализа эффективности суицидной генной терапии (СГТ) в миоматозных узлах оценивали уровень экспрессии генов проапоптотических факторов *p53*, *bax* и *DAXX*.

Установлено, что разработанное анионное покрытие повышает стабильность полиплексов и способствует успешной трансфекции клеток в присутствии сыворотки. Оценка метаболической активности клеток и окрашивание трипановым синим показали снижение пролиферативной активности первичных клеток ММ после СГТ полиплексами с анионным покрытием. На срезах миоматозных узлов, после введения полиплексов, было зарегистрировано специфичное свечение, соответствующее накоплению белка *GFP* клетками, что свидетельствует об успешной трансфекции тканей ММ.

Исследованные в данной работе модификации полиплексов с пептидными носителями позволяют значительно увеличить стабильность конструкций и эффективность трансфекции. Разработанные пептидные носители являются перспективными средствами доставки ДНК в клетки миомы матки с целью генной терапии.



Анализ изменения экспрессии генов в тканях мозга мышей с МФТП-индуцированной хронической моделью болезни Паркинсона

М.В. Шульская¹, М.М. Руденок¹, Е.И. Семенова¹, М.В. Лукашевич¹, С.Н. Рыболовлев¹, С.А. Партевян¹,
П.А. Сломинский¹, М.И. Шадрина¹, А.Х. Алиева¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт», Москва

shulskaya.m@yandex.ru

Болезнь Паркинсона (БП) является одним из наиболее распространенных нейродегенеративных заболеваний и обусловлена медленной дегенерацией дофаминергических нейронов (ДА-нейронов) среднего мозга. От начала до появления первых характерных двигательных симптомов может пройти вплоть до 20 лет. В связи с этим остро стоит вопрос об исследовании ранних досимптомных стадий заболевания. В настоящее время интенсивно проводятся исследования по поиску генов и механизмов, вовлеченных в патогенез БП на самых ранних этапах развития нейродегенеративного процесса. Однако, несмотря на это, картина этиопатогенеза БП требует значительного уточнения. Одним из решений является исследование хронических токсических моделей БП, позволяющих моделировать самые ранние этапы патогенеза БП. В нашей работе была использована хроническая модель на основе введения МФТП, одного из наиболее специфичных и распространенных токсинов для моделирования БП.

При этом был проведен экспрессионный анализ генов *Mef2c*, *Robo1*, *Sema5* и *Vegfa*, в черной субстанции, стриатуме и лобной коре мышей с МФТП-индуцированной хронической моделью БП, отобранных по результатам проведенного ранее полнотранскриптомного профилирования. Анализ проводился в тканях, взятых для исследования через 1 неделю, 2 месяца и 6 месяцев после последней инъекции токсина.

Для генов *Mef2c*, *Sema5* и *Vegfa* были выявлены статистически значимые изменения в исследуемых тканях мышей с моделированием паркинсон-подобного фенотипа. Выявленные изменения могут указывать на вовлечение этих генов в развитие патологических процессов на самых ранних этапах нейродегенерации при БП.

Финансирование: работа поддержана грантом РФФИ № 20-15-00262П.

Симпозиум 5: **Селекция и биотехнология животных**
Symposium 5: **Animal Breeding and Biotechnology**



Криорезистентность и приживляемость эмбрионов овец, полученных на разной стадии развития и криоконсервированных разными технологиями

А. М. М. Айбазов¹, М. И. Селионова²

¹ ФГБНУ Северо-Кавказский ФНАЦ

² ФГБОУ ВО «РГАУ-МСХА имени К. А. Тимирязева», Москва

m_selin@mail.ru

В России до настоящего времени не проводилось исследований по применению множественной овуляции, получению, криоконсервации и пересадке эмбрионов овец мясных пород. Нет данных по результатам криоконсервации и витрификации овечьих эмбрионов на разной стадии развития, что явилось обоснованием проведения исследований по вызыванию полиовуляции у овец породы шароле, получению эмбрионов на разной стадии развития, их криоконсервации с применением различных методов замораживания и эмбриотранферу.

Методика. Дизайн эксперимента состоял из изучения криоустойчивости двух стадий эмбриона (ранние, 2–8 бластомерные и поздние, на стадии морулы/бластоциста), двух протоколов криоконсервации (традиционное медленное замораживание и сверхбыстрая витрификация), трансфера криоэмбрионов и свежеполученных эмбрионов. Эмбрионы у овец-доноров породы шароле получали после индукции полиовуляции. Извлечение эмбрионов проводили хирургическим путем (лапаротомия) на 2 и на 6 день после осеменения. Эмбрионы замораживали двумя протоколами — стандартное медленное замораживание и сверхбыстрая витрификация.

Результаты. Установлены различия в криорезистентности эмбрионов на разных стадиях эмбрионального развития в пользу стадии морулы/бластоциста. Не выявлено влияния метода криоконсервации и стадии развития эмбрионов на сохранность их морфологической структуры. Не установлено значимых различий приживляемости криоэмбрионов на разных стадиях развития, замороженных по разным технологиям, после трансфера реципиентам. Приживляемость свежеполученных эмбрионов на разных стадиях развития была достоверно выше, чем криоконсервированных на разных стадиях развития (50,3% против 30,2%, $p < 0,01$), при этом среди свежеполученных лучшая приживляемость (50,0%) наблюдалась после переноса свежеполученных морул и бластоцист. Таким образом, сбор и криоконсервация эмбрионов на стадии морулы/бластоцисты (6 день после осеменения) является более эффективной технологией. Данные о массе плода при рождении и массе ягнят в возрасте 1, 2 и 4 месяцев не выявило различий при трансплантации криоконсервированных эмбрионов ни в зависимости от стадии развития, на которой эмбрионы были собраны от доноров, ни в зависимости от метода замораживания ($p > 0,05$).



Полиморфизм генов β -лактоглобулина и α -лактальбумина у коз альпийской породы

К.А. Беломестнов¹, М.И. Селионова²

¹ ФГБОУ ВО Ставропольский государственный аграрный университет, город Ставрополь

² ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия имени К.А. Тимирязева, город Москва

belomestnov-k@mail.ru

Современное отечественное молочное козоводство характеризуется динамичным развитием. Этому способствует возрастающий спрос на продукты, обладающие повышенным гипоаллергенными и диетическими характеристиками. В настоящее время на отечественном рынке представлен достаточно широкий ассортимент продукции российского производства из молока коз, в отличие от предыдущего периода, где преобладали импортные товары [1]. Относительно высокое содержание в козьем молоке альбуминов и меньшее, чем в коровьем молоке, глобулинов способствует формированию небольшого, мягкого и легкоперевариваемого сгустка. Это свойство и ряд других, например, таких как лучшая усвояемость железа и жира, доказывает преимущество козьего молока для детского питания как в натуральном, так и в сухом виде в составе различных смесей [2].

Ген β -лактоглобулина (β -LG) относится к семейству лактоглобулиновых белков, играющих важную роль в транспорте жирных кислот и оказывающих протекторное действие на другие белки молока. Ген α -лактальбумина (*LALBA*) кодирует α -лактальбумин — белок, играющий ключевую роль в процессе лактации и обеспечивающий синтез лактозы [3, 4].

Результаты генотипирования 124 коз альпийской породы показали внутривидовую специфичность полиморфизма аллельных вариантов в генах β -LG и *LALBA*, обусловленную их разной частотой встречаемости. Частоты встречаемости генотипов β -LG^{AA}, β -LG^{AB}, β -LG^{BB} были равны 0.1, 0.65, 0.28 соответственно. Расчет критерия χ^2 по гену β -LG показал, что среди исследованных животных был обнаружен достоверный недостаток генотипов β -LG^{AA} и избыток β -LG^{AB} и β -LG^{BB}. В гене *LALBA* обнаружена крайне низкая частота встречаемости гетерозиготного генотипа *LALBA*^{A1A2}–0.04, что в 12.75 раз меньше, чем у самого часто встречаемого генотипа *LALBA*^{A1A1} (0.51). Расчет критерия χ^2 по гену *LALBA* показал достоверный недостаток гетерозигот *LALBA*^{A1A2} и избыток гомозиготных генотипов, суммарная частота которых составила 0.96. При рассмотрении животных по двум генам одновременно, наблюдали значительное генетическое разнообразие. Из 9 возможных генотипов в исследуемом стаде были обнаружены 8 (не встречался генотип β -LG^{BB}/*LALBA*^{A1A2}), с разной частотой встречаемости: от 0.008 (β -LG^{AA}/*LALBA*^{A1A2}) до 0.365 (β -LG^{AB}/*LALBA*^{A1A1}).

- [1] Боровик Т. Э. К вопросу о возможности использования козьего молока и адаптированных смесей на его основе в детском питании / Боровик Т. Э., Семенова Н. Н., Лукоянова О. Л., Звонкова Н. Г., Скворцова В. А., Захарова И. Н., Степанова Т. Н. // Вопросы современной педиатрии. — 2013. — № 1. — Том 12. — С. 8–16.
- [2] Хайруллина Г. Ф. Состояние и перспективы развития молочного козоводства / Г. Ф. Хайруллина, М. К. Гайнуллина // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. — 2017. — Т. 231. — № 3. — С. 147–149.
- [3] Kumar A., Rout P. K., Roy R. Polymorphism of beta-lactoglobulin gene in Indian goats and its effect on milk yield // J Appl Genet. — 2006. — 47(1):49–53. doi: 10.1007/BF03194598.
- [4] El-Hanafy A. A., Qureshi M. I., Sabir J. S. M., Mutwakil M. Z., Ramadan H. A. M. I., El-Ashmaoui H. M. A., Abou-Asoud M., Ahmed M. M. Allele mining in the caprine alpha-lactalbumin (*LALBA*) gene of native Saudi origin // Biotechnology & Biotechnological Equipment. — 2016. — 30(6):1115–1121. doi: 10.1080/13102818.2016.1224683.



Определение типов конституции в популяции симментальского скота по удельно-массовому коэффициенту

Е.Р. Гостева¹, М.Б. Улимбашев²

¹ ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока»

² ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ»

ekagosteva@yandex.ru

Многообразие методов установления типов телосложения предопределяет интерес селекционеров к дальнейшей разработке более объективной оценки конституции с целью выявления по нему хозяйственно ценных качеств молочного скота.

В этой связи усовершенствование методических подходов по выявлению более продуктивного типа телосложения коров молочного стада представляет для селекционеров не только определенный теоретический, но и большой практический интерес.

Для определения экстерьерно-продуктивных типов нами предложен способ, который основан на определении удельно-массового коэффициента (УМК) с использованием 4 промеров тела и живой массы коровы по следующей формуле: $УМК = 2500 \times M / \Gamma_r \times K_d \times (Ш_r + Ш_t)$, где М — живая масса коровы, кг; Γ_r — глубина груди, см; K_d — косая длина туловища (мерной палкой), см; $Ш_r$ — ширина груди, см; $Ш_t$ — ширина в тазобедренных сочленениях, см. По полученным показателям УМК коров распределяем на три экстерьерно-конституциональных типа: рыхлый — от 1,36 и менее, промежуточный — от 1,37 до 1,54 и плотный — от 1,55 и более.

По результатам исследований на полновозрастных симментальских коровах разной селекции нами получены данные, которые подтверждаются значениями о существенных межгрупповых различиях по удельно-массовому коэффициенту. У симментальских коров отечественной селекции (ОС) к доминирующему типу телосложения относились коровы плотного типа — 85% с УМК — 1,68 и промежуточного типа — 15% с УМК — 1,46, тогда как в группе коров немецкой селекции (НС) распределение по типам было следующим: плотный — 30, рыхлый — 15, промежуточный — 55% с удельно-массовым коэффициентом — 1,71; 1,35 и 1,44. Коровы плотного типа ОС превосходили коров промежуточного типа по удою в среднем на 405 кг ($P > 0,999$), тогда как у коров НС разница составила между сравниваемыми типами 246 кг ($P > 0,95$). Представительницы рыхлого типа телосложения характеризовались меньшим удоем относительно сверстниц других типов в среднем на 202–448 кг ($P > 0,95–0,99$). По концентрации жира и белка в молоке животные промежуточного типа превосходили значения сверстниц плотного типа по ОС на 0,04 абс. процентов, немецким — 0,09 абс. процентов ($P > 0,999$). Отмечали, что среди коров НС за всю продуктивную жизнь наименьшее количество молока надоено от коров рыхлого типа телосложения — 24679 кг молока, что ниже на 3482–7538 кг ($P > 0,999$) по сравнению со значениями животных других типов.



Новый комплексный селекционный индекс в селекции животных

Н.В. Коник¹, М.Б. Улимбашев²

¹ ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова»

² ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ»

koniknv@mail.ru

При формировании нового селекционного индекса исходили из возможностей его использования в селекции разных видов животных и направления продуктивности, включающего в себя как продуктивные показатели, так и признаки, определяющие конституциональную крепость животного. При его создании стояла задача избавиться от номинального измерения разных признаков и объединения их в единую единицу измерения, для чего разделили величину показателя каждого признака особи на минимальный показатель признака (min) в массиве оцениваемых животных стада, где проводился отбор, т.е. min показатель каждого признака животного стада, что служило переводным весовым коэффициентом для объединения в совокупный селекционный индекс и перевод в единую единицу измерения, позволяющую провести суммирование признаков с разными номинальными единицами измерения.

Данный методический подход можно выразить в виде селекционного индекса по формуле:

$$СИ = \sum_{1-n}^n \frac{V}{V_1}, \text{ где СИ — селекционный индекс;}$$

1 – n — число признаков, учтенных в селекционном индексе; Σ — знак суммы показателей признаков, переведенных в единую единицу измерения; V — величина признака особи, учтенного в селекционном индексе; V_1 — особь с минимальной величиной признака, учтенного в селекционном индексе.

Установлено, что предложенный комплексный селекционный индекс, объединяя признаки с разными номинальными измерениями в единую единицу измерения, способствует возможности его использования у разных видов и пород животных для проведения отбора совокупно в одном измерении в виде общего селекционного индекса независимо от степени селекционного достижения в стаде, отаре, табуне, может быть применена в селекции животных.

Апробацию предлагаемого селекционного индекса провели по трем признакам у 135 коров красной породы по методу Р.Р. Тейнберга и предлагаемому нами комплексному селекционному индексу. Получены идентичные недостоверные различия величины признаков удоя, содержания жира и белка в молоке по сравниваемым методам при отборе 25% худших коров.

Предложен комплексный селекционный индекс, объединяющий признаки с разными номинальными измерениями в единую единицу измерения, что способствует возможности его использования на разных видах и породах животных для проведения отбора совокупно в одном измерении в виде общего селекционного индекса независимо от степени селекционного достижения в стаде, отаре, табуне, может быть применен в селекции, не претендуя на превосходство над другими селекционными индексами, но со своими достоинствами.



Анализ ассоциаций однонуклеотидных замен с компонентами молока коз

М.И. Селионова¹, В.И. Трухачев¹, А.А. Белоус²

¹ ФГБОУ ВО «РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева», Москва

² ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, Подольск

selionova@rgau-msha.ru

Молочное козоводство характеризуется динамичным развитием, обусловленного устойчивым спросом на продукцию из козьего молока [1]. Выявление генов-кандидатов, ассоциированных с наиболее экономически важными признаками коз, позволяет ускорить селекционный процесс в козоводстве [2, 3]. Цель работы: идентификация генов-кандидатов, связанных с молочной продуктивностью карачаевских коз на основе полногеномного ассоциативного анализа. Методика. Генотипирование выполняли с использованием панели GoatSNP53K Beadchip и программы BeadStudio, контроль качества, фильтрацию данных, выявление ассоциаций для каждого SNP (Single Nucleotide Polymorphism) с компонентами молока проводили множественным линейным регрессионным анализом с помощью программного пакета PLINK 1.90, визуализацию данных — в пакете qqman с использованием языка R. Анализ компонентов молока коз проводился на базе ОНИС БиоТехЖ с использованием автоматического анализатора CombiFoss 7 DC («FOSS», Дания). Результаты. Выявлены полногеномные и суггестивные SNP, при этом наибольшее число SNP было расположено на хромосомах (Chr) 2, 8, 16 и 25. На Chr 8 один SNP (snp997-scaffold1026-378556) был общим для двух признаков (массовая доля белка (МДБ) и содержание лактозы (Л)), два SNP (snp43681-scaffold585-2255525 и snp33285-scaffold391-913110) — для двух признаков (МДБ и Л, массовая доля жира (МДЖ) и насыщенные жирные кислоты (ЖК)); на Chr 2 три SNP (snp18646-scaffold1882-539299, snp8325-scaffold130-2860751 и snp8326-scaffold130-2909971) — для четырех признаков (сухое вещество и насыщенные ЖК, МДБ и содержание казеина); на Chr 25 один SNP (snp16908-scaffold1766-616140) — для семи признаков (МДЖ, длинно-, средне- и короткоцепочечные, пальмитиновая, олеиновая ЖК, трансизомеры ЖК). Три полиморфизма — snp18646-scaffold1882-539299, snp10469-scaffold1373-2167084 и snp33285-scaffold391-913110 на Chr 2 и 8, соответственно, — пяти (насыщенные, средне- и короткоцепочечные, миристиновая и пальмитиновая ЖК); snp3754-scaffold112-3973504 на Chr 16 — двух признаков (олеиновая и длинноцепочечные ЖК). Структурная аннотация геномных регионов, покрывающих окно $\pm 0,20$ Mb, выявила 23 гена с описанными функциями в терминах геномной онтологии. Гены ADRA1A, DPYSL2, NKX3-1, NKX2-6, TNN, ABCA3, ODAD2, CASP7, HABP2, PHACTR1 и MFHAS1 регулируют процессы развития физиологических особенностей организма, FMO2, ECI1, FMO1, BAG2, PGP, AMDHD2 и PDZD8 — метаболизма, METTL8, STC1, PDPK1 — клеточных функций, AGTPBP1 — нервной системы, NRAP — развитием сосудов; INSIG1, SEMIP2, VAAT, PLPPR1, LACTB, FMO1, FMO2, ECI1, PGP и ABCA3 — липидного обмена и развития жировой ткани.

1. *Ерохин, А. И.* Динамика поголовья коз и производства козьего молока и мяса в мире и в России / А. И. Ерохин, Е. А. Карасев, С. А. Ерохин // Овцы, козы, шерстяное дело. — 2020. — № 4. — С. 22–25. DOI:10.26897/2074-0840-2020-4-22-25.
2. *Saleh, A. A.* Candidate genes and signature of selection associated with different biological aspects and general characteristics of goat / A. A. Saleh, A. M. A. Rashad, N. A. M. Hassanine, et al. // Emerging Animal Species. — 2022. — No. 5. — Article 100013. DOI:10.1016/j.eas.2022.100013.
3. *Трухачев, В. И.* Характеристика корреляционных связей между компонентами молока коз молочного и комбинированного направлений продуктивности / В. И. Трухачев, М. И. Селионова, А. М. М. Айбазов и др. // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. — 2022. — № 5. — С. 108–119. DOI:10.26897/0021-342X-2022-5-108-119.



Идентификация полиморфизма в генах, ассоциированных с биомаркерами компонентного состава молока коров, с использованием методов геномного анализа и инфракрасной спектроскопии

А.А. Сермягин¹, Н.А. Зиновьева¹

¹ ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, Подольск, Московская область

alex_sermyagin85@mail.ru

Оценка генотипа крупного рогатого скота молочного направления продуктивности является одной из основных задач современной генетики количественных признаков. Анализ молекулярных механизмов синтеза жирнокислотной, белковой фракций и остаточных метаболитов обмена веществ в молоке позволяет выявлять закономерности формирования и реализации продуктивных качеств особей, вести поиск путей прогнозирования ряда важных селекционных признаков (сыропригодность молока, физиологический статус животного и др.). Цель исследований состояла в идентификации полиморфизмов в генах, ответственных за регуляцию синтеза и изменчивость компонентного состава молока коров с использованием GWAS анализа для биомаркеров жирных кислот и казеина молока, обмена веществ, полученных с помощью инфракрасной спектроскопии. В работе использовались генотипы 279 гол. особей, полученные на основе биочипов BovineSNP50_v3_A1 (Illumina). Анализы молока проводились на инфракрасном анализаторе MilkoScan 7 (FOSS) в период 2020–2023 гг., число которых составило 10044 образцов. Установлено, что наибольшее число генов картировали локусы количественных признаков для следов ацетона и концентрации мочевины (*FRS2*, *CTNNA2*, *EIF2AK3*, *HPCAL1*, *KCNMA1* — связаны с изменчивостью содержания коллагена в мышцах, нежностью мяса, репродуктивными качествами, продолжительностью продуктивной жизни, процентом белка в молоке); биомаркеров содержания лактозы и концентрации мочевины (*PDE11A*, *GALNT13*, *NPSR1*, *NRCAM*, *SEPT7*, *DCK*, *ABLIM3*, *TSC1*, *KCNQ3*, *WVWX*, *CFAP43*, *FAS*, *TCF7L2*, *BMPR1A*, *GALNT2*, *GPLD1* и *TENM4* — устойчивость к ряду заболеваний, экстерьерные параметры, фертильность). Данные показатели в значительной мере отвечают за функциональные качества животных, что и подтвердилось в результате анализа. Стоит выделить «главные» гены продуктивности. Так полиморфизм в гене *DGAT1* (включая гены *CYHR1*, *VPS28*, *ZC3H3* на BTA14) был ассоциирован со следующими биомаркерами молока: кислотность, короткоцепочечные ЖК (КЦЖК), процент жира, насыщенные ЖК (НЖК), С14:0, С16:0, сухое вещество, среднецепочечные ЖК (СЦЖК), что обуславливало их сопряженность с QTL, отвечающими за синтез процента жира и белка молока, выход молочного жира и белка, ряда ценных жирных кислот, морфологическими качествами вымени коров. По гену комплекса белковых частиц 9 — TRAPPС9 (включая гены *GRIN2B* и *DNAJC21* на BTA14) также была установлена сопряженность с уровнем изменчивости биомаркеров ряда жирных кислот — КЦЖК, МДЖ, НЖК, С14:0, С16:0, СЦЖК. Было обнаружено наибольшее число QTL для процента молочного жира и белка, содержания олеиновой ЖК и витамина В-12 в молоке, индексом стельности и мертворождениями, крепостью конечностей и костяка. Таким образом, полученные результаты указывают на детерминацию изменчивости состава молока коров рядом полиморфизмов в генах, входящих в QTL, значимо сопряженных с селекционно значимыми признаками у молочного скота.

Исследования проведены при финансовой поддержке проекта РНФ № 21-76-20046.



Создание мультиплексной NGS-панели для улучшения селекционной работы в области свиноводства

Э.А. Снегин¹, А.А. Сычев¹, О.Ю. Артемчук¹, А.С. Бархатов¹, Е.А. Снегина¹, С.Р. Юсупов¹,
А.Ю. Юсупова¹

¹ Белгородский государственный национальный исследовательский университет, г. Белгород
snegin@bsu.edu.ru

Для корректировки селекционного процесса была создана мультиплексная NGS-панель, включающая 108 SNP из 88 генов, связанных с хозяйственно ценными признаками ключевых пород свиней, разводимых на территории Белгородской области: крупная белая, ландрас, дюрок, йоркшир (референтная популяция включала по 250 голов каждой породы). Для панели были подобраны SNP, достоверно ассоциированные с такими параметрами свиней, как репродуктивный потенциал, рост, качество мяса и сала, устойчивость к стрессу, резистентность к инфекционным заболеваниям.

Биоинформатический анализ каждого SNP был проведен с использованием программы Clone Manager. Секвенирование образцов было проведено с помощью кастомизированной панели TruSeq Sequencing Panel (Illumina) на ДНК-секвенаторе MiSeq. После фильтра маркеров по частоте минорного аллеля не менее 5%, осталось 83 SNP. Стоит отметить, что по 5 маркерам наблюдалась полная мономорфность по всем породам (IGF1R, ADP, DGAT1, MYO5A, SDHC). Столь высокая доля маркеров с низкой частотой минорных аллелей может быть следствием близкородственного скрещивания, снижением генетического разнообразия, а также направленной элиминацией вредных аллелей. Например, частота мутантного аллеля стресс-синдрома RYR1 составила 0,015.

Результаты анализа ассоциации отобранных SNP и хозяйственно-ценными признаками на основании теста Бонферрони после общегеномной коррекции из 83 проанализированных маркеров достоверные ассоциации ($P < 0,05$) с анализируемыми хозяйственно-значимыми признаками выявлены только у 64. Примечательно, что с признаком ежесуточного прироста ассоциаций не обнаружено ни у одного анализируемого генетического маркера. Наибольшее число достоверных ассоциаций SNP выявлено с содержанием внутримышечного жира и толщиной шпика (51 и 47 маркеров, соответственно).

Для интеграции полученной информации на основе полученных генетических данных нами была рассчитана племенная ценность анализируемых животных. Для этого мы использовали прямую оценку генома (DGV, Direct Genomic Values). Результаты показывают, что значения индекса DGV у проанализированных свиней колеблется от 81,5 до 156. Пониженные значения индекса вызваны носительством негативных аллелей.



Генетическая структура лошадей кабардинской породы по генам *MC1R* и *ASIP*, детерминирующие масть

А.Д. Хаудов¹, М.Х. Жекамухов², Х.К. Амшонов²

¹ Кабардино-Балкарский научный центр Российской академии наук, г. Нальчик

² Институт сельского хозяйства – филиал КБНЦ РАН, г. Нальчик

aliy-beck@yandex.ru

Кабардинская порода лошадей считается одной из самых древних в России. Ее высоко ценят за выносливость и устойчивость к различным климатическим условиям.

Для кабардинских лошадей характерен широкий спектр мастей и определение аллельной вариативности по генам, детерминирующим окрас шерсти, представляет значительный интерес для селекции. Основными генами, регулирующими окрас шерсти лошадей, являются *MC1R* (Melanocortin 1 receptor) и *ASIP* (Agouti Signaling Protein). *MC1R* активируется меланоцитстимулирующим гормоном MSH, что приводит к образованию эумеланина (черный пигмент), который обусловлен экспрессией гена *MC1R* дикого типа (аллель *E*). Мутация C901T гена *MC1R* (аллель *e*), приводит к синтезу в меланоцитах только феомеланина (красно-желтый пигмент). Ген *ASIP* кодирует сигнальный белок агуты (аллель *A*), который является антагонистом MSH и может блокировать функцию *MC1R*, что, в свою очередь, приводит к ингибированию синтеза эумеланина. Делеция в гене *ASIP* (аллель *a*) приводит к образованию черного окраса шерсти у лошадей. Ранее были разработаны маркеры для идентификации аллелей обоих генов.

Цель данного исследования — установить распределение частот аллелей генов *MC1R* и *ASIP* в современной популяции лошадей кабардинской породы.

Генотипирование проведено для 127 особей производящего состава. У большинства исследованных лошадей (96,9%) выявлено наличие доминантного аллеля *E* гена *MC1R*. Преимущественно гетерозиготными были гнедые лошади (81,8% от всех особей данной масти). Доминантный генотип *E/E* был выявлен с высокой частотой у лошадей вороной (69,7%), караковой (71,4%) и темно-гнедой (39,1%), масти. Генотип *e/e*, который характерен для рыжего окраса шерсти, встречался с частотой 0,03 и был обнаружен только у 23,5% серых лошадей.

В случае гена *ASIP*, чей белок является репрессором *MC1R*, ситуация была иной. Наиболее часто встречающимся был рецессивный аллель *a* гена *ASIP* и 38,9% всех особей были его гомозиготными носителями. Частота встречаемости генотипа *A/A* гена *ASIP* увеличивалась по мере осветления окраса шерсти: караковый (9,5% от особей масти), темно-гнедой — 56,6%, гнедой — 84,8%. Все животные вороной масти имели *a/a*. Показано, что окрасы шерсти лошадей кабардинской породы были достоверно связаны с генотипами генов *MC1R* и *ASIP* ($p < 0,001$).

Полученные результаты будут полезны при составлении селекционных программ для лошадей кабардинской породы и будут иметь практическое значение для коннозаводчиков при подборе особей.

Симпозиум 6: Пост-трансляционные процессы
Symposium 6: Post-translational Processes



Влияние цитоплазматического pH на фазовую сепарацию Sup35NM в клетках *Saccharomyces cerevisiae* при стрессовых воздействиях

А.Е. Гаврилов¹, Н.А. Горшенева¹, К.Ю. Куличихин¹, А.Г. Матвеев², А.А. Рубель¹

¹ Научная лаборатория биологии амилоидов СПбГУ, Санкт-Петербург

² Кафедра генетики и биотехнологии СПбГУ, Санкт-Петербург

havrilovalex02@gmail.com

В ответ на неблагоприятные внешние воздействия в клетке запускается ряд неспецифических ответных реакций, называемых стрессом. К ним относят закисление цитоплазмы, а также образование биомолекулярных конденсатов — обратимых макромолекулярных комплексов, содержащих белки и нуклеиновые кислоты и формирующихся в цито- или нуклеоплазме за счет разделения фаз.

Считается, что в образовании биомолекулярных конденсатов задействованы белки, имеющие неупорядоченные участки. К числу таких белков относится Sup35, фактор терминации трансляции eRF3 у дрожжей, содержащий неструктурированный участок Sup35NM. Ряд исследователей полагают, что триггером образования биоконденсатов, в том числе конденсатов Sup35, при стрессе является именно закисление цитоплазмы [1, 2], тем не менее эта гипотеза нуждается в дополнительной проверке.

Целью данного исследования является изучение влияния $\text{pH}_{\text{цит}}$ на образование биоконденсатов NM-доменами Sup35. Для ее достижения Sup35NM был слит с красным флуоресцентным белком уTag-RFP-T и сверхпродуцирован в клетках *S. cerevisiae*. Клетки подвергали стрессовым воздействиям, приводящим к изменению $\text{pH}_{\text{цит}}$ (закисление внешней среды до pH 5,0 или гиперосмотический шок), затем визуализировали конденсаты Sup35NM с помощью флуоресцентной микроскопии. Параллельно измеряли $\text{pH}_{\text{цит}}$ *in vivo* с помощью pH-чувствительного белка *sfrHluorin*. В ходе экспериментов не обнаружили корреляции между изменением $\text{pH}_{\text{цит}}$ и конденсацией Sup35NM. Таким образом, образование конденсатов Sup35NM при помещении клеток в буферы с pH 5,0, pH 7,0 и при гиперосмотическом шоке не зависит от значения $\text{pH}_{\text{цит}}$.

1. Franzmann, T. M. et al., (2018). Phase separation of a yeast prion protein promotes cellular fitness // Science (New York, N. Y.), 359(6371), eaao5654. <https://doi.org/10.1126/science.aao5654>.
2. Munder, M. C. et al., (2016). A pH-driven transition of the cytoplasm from a fluid- to a solid-like state promotes entry into dormancy. eLife, 5, e09347. <https://doi.org/10.7554/eLife.09347>.

Исследование было выполнено при финансовой поддержке Санкт-Петербургского государственного университета (проект № 95444727).



Сравнительная характеристика штаммов $[PSI^+]$, образованных белком Sup35, с делециями различных участков прионогенного домена

К.Ю. Куличихин¹, Ю.В. Сопова¹, А.А. Рубель¹

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

konstantin_kulichikhin@yahoo.com

Прионы дрожжей являются удобной моделью для исследования механизмов агрегации белков, связанных с нейродегенеративными протеинопатиями человека. Наиболее изученным прионом дрожжей является $[PSI^+]$ — прионная форма белка Sup35, фактора терминации трансляции eRF3.

В образование амилоидного ядра агрегатов Sup35 могут быть вовлечены различные участки прионогенного домена. Так, у дрожжей ключевую роль здесь играет QN-богатый N-терминальный участок. В клетках млекопитающих при сверхпродукции участка Sup35, лишённого функционального домена (Sup35NM), ведущую роль в агрегации берет на себя C-терминальный участок прионогенного домена. Фрагментация амилоидных фибрилл, необходимая для передачи приона в дочерние клетки, происходит у дрожжей с участием шаперонов, в частности, Hsp104, Hsp40 и Hsp70.

Мы получили штаммы дрожжей, несущие прионы, образованные делеционными вариантами белка Sup35, в частности, Sup35 Δ 75–123 и Sup35 Δ 39 (делеция C-терминального и N-терминального участка прионогенного домена, соответственно). Штамм приона $[PSI^{\Delta 39+}]$ был получен путем трансформации клеток дрожжей агрегатами белка Sup35NM Δ 39, выделенными из клеток млекопитающих; в клетках дрожжей штамм приона с такой делецией был получен впервые.

Мы показали, что в формирование амилоидного ядра прионов $[PSI^{\Delta 39+}]$ и $[PSI^{\Delta 75-123+}]$ вовлечены различные участки прионогенного домена белка Sup35, т. к. агрегаты белка Sup35 Δ 39 были неспособны вызывать агрегацию мономеров Sup35 Δ 75–123, и наоборот. Кроме того, прион $[PSI^{\Delta 75-123+}]$, по сравнению с $[PSI^{\Delta 39+}]$, обладал большей митотической стабильностью, лучше излечивался на среде с гидроксидом гуанидина и по этим характеристикам был близок к штаммам $[PSI^+]$, образованным полноразмерным Sup35. Мы полагаем, что вовлеченность того или иного участка прионогенного домена Sup35 в формирование амилоидного ядра влияет на способность различных белков-шаперонов связываться и фрагментировать агрегаты белка Sup35. В этой связи штаммы дрожжей, несущие прионы, образованные различными делеционными вариантами Sup35, могут являться удобной моделью для изучения механизмов образования и поддержания прионов в клетках эукариот.

Исследование выполнено в рамках проекта СПбГУ № 95444727.



Поиск амилоидогенных белков человека с использованием тест-системы на модели дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

В.А. Прохоров¹, Ю.В. Андрейчук^{1, 2}, А.Ю. Аксенова¹, А.А. Рубель¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет

² Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН

prohor.syawa@yandex.ru

Амилоиды — это самовоспроизводящиеся фибриллярные белковые агрегаты с упорядоченной структурой. Переход белков из нативной формы в амилоидную связан с развитием ряда неизлечимых заболеваний у человека и животных (болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, системные амилоидозы и др.). Кроме патологических описаны функциональные амилоиды, выполняющие различные физиологические функции — изолирующую, запасающую, сигнальную. Функциональные амилоиды обнаружены у организмов разных систематических групп, и их список постоянно увеличивается.

Для поиска амилоидогенных белков была использована тест-система, позволяющая оценивать амилоидогенный потенциал белков в дрожжах *S. cerevisiae* [1]. В основе тест-системы лежит способность дрожжевого белка Sup35 — фактора терминации трансляции eRF3 — к амилоидной агрегации и образованию приона [*PSI*⁺]. Прионизация Sup35 приводит к супрессии нонсенс-мутаций и изменению фенотипа дрожжей, если мутация имеет фенотипическое проявление. Так, штаммы дрожжей с нонсенс-мутацией *ade1-14* в гене *ADE1* неспособны расти на среде без аденина (фенотип Ade⁻). Появление [*PSI*⁺] приводит к восстановлению этой способности (фенотип Ade⁺) за счет супрессии нонсенс-мутации. Для оценки амилоидогенного потенциала исследуемого белка, в штамме дрожжей с мутацией *ade1-14* сверхпродуцируется химерная конструкция, где белок интереса слит с прионогенным доменом белка Sup35. При агрегации белка интереса происходит агрегация прионогенного домена Sup35 в химерной конструкции. За счет этого в агрегаты вовлекается растворимый Sup35, что приводит к появлению фенотипа Ade⁺.

Ранее нами была получена библиотека плазмид, где кДНК генов человека была слита с последовательностью прионогенного домена Sup35. Скрининг библиотеки в тест-системе выявил белки, амилоидные свойства которых были подтверждены дополнительными методами. В данной работе мы продолжили поиск и обнаружили новые белки-кандидаты, среди которых рибосомальные белки, факторы транскрипции и трансляции и белки, вовлеченные в канцерогенез.

[1] Chandramowlishwaran P. et al., 2018. doi: 10.1074/jbc.M117.809004.

Исследование поддержано РНФ (грант № 20-14-00148-П) и СПбГУ (проект № 95444727) с использованием приборной базы РЦ «РМикТ» и «Хромас» Научного парка СПбГУ.



Синтез рибозо-5-фосфата как фактор, модулирующий чувствительность клеток *E. coli* к антибиотикам

Т.А. Серегина¹, С.А. Склярова¹, Р.С. Шакулов¹, А.С. Миронов¹

¹ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва
tatyana.s82@gmail.com

Зависимость эффективности действия антибиотиков от состояния метаболизма бактерий была отмечена многими исследователями, однако сформулирована и подтверждена экспериментально была работами Д. Коллинза и сотрудников, показавших, что бактерицидный эффект антибиотиков зависит от интенсивности биосинтетических процессов, процессов дыхания и редокс статуса [Dwyer, D. J. et al., 2015]. В условиях окислительного стресса метаболическим редокс сенсором и регулятором является катаболический пентозофосфатный путь (окислительная ветвь ПФП), координирующий посредством SoxRS-системы биосинтез пентоз и NADPH эквивалентов, необходимых для анаболических процессов [Krüger, A. et al., 2011]. В проведенных нами исследованиях было обнаружено, что индукция анаболического синтеза пентозофосфатов при инактивации окислительной ветви ПФП (Δzwf) ведет к повышению чувствительности бактерий к антибиотикам, а введение дополнительной мутации по генам транскетолазы ($\Delta talAB$) (фермент неокислительной ветви ПФП) значительно усиливает этот эффект. В двойном мутанте $\Delta zwf \Delta talAB$ синтез пентозофосфатов приобретает однонаправленный энергозависимый характер и осуществляется с участием ферментов гликолиза альдолазы FbaA(B) и фосфатазы GlpX. Этот анаболический процесс аналогичен известному этапу в цикле Кальвина [Garschagen L. S., et al., 2021]. Мы также показали, что активация процессов метаболизации рибозо-5-фосфата, таких как синтез пуринов (мутант $\Delta zwf \Delta talAB \Delta purR$) или усиление биосинтеза ЛПС клеточной стенки *E. coli* (мутант $\Delta zwf \Delta talAB P_{tet-gmhA} P_{tet-rfaD}$), приводит к супрессии чувствительности к антибиотикам. Принимая во внимание, что основной фермент неокислительной ветви транскетолаза TktA является редокс-регулируемым [McDonagh, B., et al., 2013], в ПФП, вероятно, осуществляется переключение между анаболическим (из фруктозо-6-фосфата) и катаболическим (из глюкозо-6-фосфата), находящимся под управлением стрессового промотора SoxS, путями синтеза пентозофосфатов. Нарушение этого баланса, ведущее, по-видимому, к избыточному накоплению пентоз в клетке, лежит в основе обнаруженной нами сверхчувствительности к различным классам антибиотиков.



Поиск белков, способных коагрегировать с альфа-синуклеином в протеомах бактерий

Н.П. Трубицина¹, О.М. Землянко^{1,2}, Т.М. Рогоза^{1,3}, Л.Г. Данилов¹,
Г.А. Журавлева^{1,2}, С.А. Бондарев^{1,2}

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологии, Санкт-Петербург

² Санкт-Петербургский государственный университет, Научная лаборатория биологии амилоидов, Санкт-Петербург

³ Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербург

n.trubitsina@spbu.ru

Симптомы болезни Паркинсона нередко дополняются развитием кишечного дисбиоза. Уже известны конкретные примеры бактериальных таксонов, количество которых изменяется при данном заболевании. Существует гипотеза, согласно которой развитие болезни Паркинсона начинается с кишечника. При этом одной из предполагаемых причин возникновения этого заболевания является образование агрегатов белка альфа-синуклеина при коагреации с амилоидными белками кишечных бактерий. Известно, что белок *E. coli* CsgA, который формирует амилоидные агрегаты на поверхности клеток, может индуцировать агрегацию альфа-синуклеина (см. обзор Трубицина и др., 2024а). В поддержку гипотезы о том, что синуклеинопатии могут развиваться, начиная с кишечника, мы осуществили поиск новых поверхностных белков у кишечных бактерий, способных вызывать агрегацию альфа-синуклеина.

Биоинформатический поиск белков, способных коагрегировать с альфа-синуклеином, мы провели с использованием программы AmyloComp (Bondarev et al., 2024) в протеомах бактерий, количество которых изменяется в микробиоме пациентов с болезнью Паркинсона. Мы получили список белков разных бактерий, сходных по структуре с альфа-синуклеином и потенциально способных коагрегировать с ним, и провели анализ Gene Ontology. В группе бактерий, увеличение числа которых связано с развитием болезни Паркинсона, повышено число белков, располагающихся снаружи клетки. Мы выявили набор белков, потенциально взаимодействующих с альфа-синуклеином. Используя систему C-DAG, мы проверили агрегацию фрагментов белков-кандидатов в *E. coli*. Для последующей экспериментальной проверки мы разработали тест-систему, основанную на анализе агрегации белка интереса *in vitro* при добавлении в раствор бактериальных клеток с амилоидными агрегатами на их поверхности.

Мы опробовали этот подход на хорошо изученном примере Sup35NM. Клетки с агрегатами Sup35NM ускоряли агрегацию этого же белка *in vitro* (Трубицина и др., 2024б). Дальнейшие эксперименты показали, что тест-система применима и для изучения коагрегации гетерологичных белков: агрегаты Rnq1 стимулируют агрегацию Sup35NM, в то время как фибриллы альфа-синуклеина не обладают подобным эффектом, что соответствует литературным данным.

1. Трубицина Н. П., Матиив А. Б., Рогоза Т. М., Зудилова А. А., Безгина М. Д., Журавлева Г. А., Бондарев С. А. Роль микробиома кишечника и амилоидов бактерий в развитии синуклеинопатий // Биохимия, принято в печать (2024).
2. Bondarev S. A., Uspenskaya M. V., Leclercq J., Falgarone T., Zhouravleva G. A., Kajava A. V. AmyloComp: a bioinformatic tool for prediction of amyloid co-aggregation, JMB, 168437 (2024).
3. Трубицина Н. П., Землянко О. М., Журавлева Г. А., Бондарев С. А. Использование бактериальной системы C-DAG для анализа способности амилоидов индуцировать агрегацию белка *in vitro* // Микробиология, принято в печать (2024).

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 22-74-10042.



Влияние фактора инициации трансляции eIF3 на эффективность терминации трансляции у эукариот

Е.Ю. Шувалова¹, А.В. Шувалов¹, В. Аль Шейх¹, Н.С. Бизяев¹, Е.З. Алкалаева¹

¹ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук, Москва, 119991 Россия
hritova_katia@mail.ru

Фактор инициации трансляции eIF3 является крупным белковым комплексом, состоящим из 13 субъединиц. Помимо инициации трансляции, где он координирует работу других факторов, eIF3 участвует в рециклинге рибосом, где способствует их разборке после терминации. В случае трансляции коротких открытых рамок считывания, eIF3 может оставаться связанным с рибосомой во время элонгации и терминации, способствуя инициации на последующих инициаторных кодонах. Также eIF3 играет роль в сквозном чтении стоп кодонов у дрожжей, взаимодействуя с претерминационными комплексами (преТК). Кроме того, eIF3 пространственно сближен с замкнутой петлей (closed-loop) мРНК, образующейся в результате взаимодействия eIF4F и РАВР. Ранее в нашей лаборатории было показано, что РАВР участвует в терминации трансляции эукариот, загружая факторы терминации на рибосому (Ivanov et al., 2016). В связи с вышесказанным, мы предположили, что eIF3 может регулировать терминацию трансляции. Терминация происходит, когда транслирующая рибосома достигает стоп кодона, который распознается в А-сайте рибосомы фактором терминации eRF1, с которым связывается стимулирующая его активность ГТФаза eRF3a. После правильного позиционирования eRF1 происходит высвобождение новосинтезированного пептида. В данной работе, используя реконструированную систему трансляции млекопитающих, мы показали, что eIF3 стимулирует терминацию трансляции на разных стадиях, а именно, на стадии распознавания стоп кодона и далее на стадии аккомодации eRF1 в пептидил-трансферазном центре после гидролиза ГТФ. Это согласуется с обнаруженным нами стимулирующим эффектом eIF3 на ГТФазную активность eRF3. Кроме того, с использованием метода Termi-luc (Susorov, Egri and Korostelev, 2020), мы обнаружили, что eIF3 способен значительно повышать эффективность гидролиза пептидил-тРНК. Таким образом, мы показали влияние фактора eIF3 на терминацию трансляции эукариот, за счет стимуляции ГТФазной активности eRF3a, и, как следствие, повышения эффективности высвобождения пептида.

1. Ivanov, A. et al. (2016) 'PABP enhances release factor recruitment and stop codon recognition during translation termination', *Nucleic Acids Research*, 44(16), pp. 7766–7776. doi: 10.1093/nar/gkw635.
2. Susorov, D., Egri, S. and Korostelev, A. A. (2020) 'Termi-Luc: a versatile assay to monitor full-protein release from ribosomes', *RNA*.

Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ 22-14-00279.

Симпозиум 7: Эволюционная генетика
Symposium 7: Evolutionary Genetics



FISH-картирование кластеров 45S и 5S рДНК на хромосомах хозяйственно-ценных видов амаранта *Amaranthus cruentus* L. и *A. hypochondriacus* L.

А.В. Амосова¹, С.А. Зошук¹, Ю.В. Кальнюк¹, Т.Е. Саматадзе¹, О.Ю. Юркевич¹, Ф.М. Хазиева²,
И.В. Басалаева², А.И. Морозов², О.В. Муравенко¹

¹ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, г. Москва, Россия

² Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений, г. Москва, Россия

amomar@mail.ru

Amaranthus cruentus L. (амарант метельчатый) и *A. hypochondriacus* L. (амарант печальный) являются перспективными хозяйственно-ценными представителями рода *Amaranthus* L. широкого применения [1, 2]. Кариотипы этих видов, как и других видов этого рода, изучены недостаточно из-за небольшого размера их хромосом [1, 2]. Впервые методом флуоресцентной гибридизации *in situ* поведено сравнительное изучение хромосомной структуры геномов видовых образцов *A. cruentus* и *A. hypochondriacus* из коллекции ВИЛАР. FISH-картирование классических цитогеномных маркеров 45S и 5S ДНК с последующим дифференциальным DAPI-окрашиванием хромосом позволило провести первичную идентификацию хромосом в кариотипах и подтвердить основные числа хромосом в кариотипах исследуемых образцов *A. cruentus* ($2n = 2x = 34$) и *A. hypochondriacus* ($2n = 4x = 32$). Для каждого изученного вида уточнено количество кластеров 45S и 5S рДНК и выявлена их хромосомная локализация. Установлено, что в кариотипах обоих видов основные сигналы гибридизации 45S рДНК расположены в коротких плечах одной пары хромосом в районе вторичной перетяжки и спутничной нити. При этом, у изучаемого образца *A. hypochondriacus* наблюдались очень длинные спутничные нити. В кариотипе *A. cruentus* кластеры 5S рДНК были локализованы в прицентромерном районе трех пар хромосом. У *A. hypochondriacus* также выявлено три пары хромосом, несущих основные локусы 5S рДНК, но дополнительно обнаружены полиморфные минорные сигналы гибридизации этого зонда на 1–2 парах хромосом. Сходство по рисункам распределения основных сайтов рибосомных генов на хромосомах *A. cruentus* и *A. hypochondriacus* может указывать на общность происхождения их геномов.

1. Bonasora M. G., Poggio L., Greizerstein E. J. *CompCytogen*, 2013, 7(1), 53–61. DOI: 10.3897/CompCytogen.v7i1.4276.
2. Prajitha V., Thoppil J. E. *Cytotechnology*, 2018, 70, 95–101. DOI: 10.1007/s10616-017-0100-9.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках проекта № 24-26-00184.



Репродуктивные взаимоотношения между биотипами, морфологически близкими к *Elymus lenensis* (Poaceae: Triticeae)

Д.Д. Андрейчук^{1, 2}, А.В. Агафонов², Е.В. Шабанова (Кобозева)²

¹ Центральный Сибирский Ботанический Сад СО РАН; Новосибирский Государственный Университет

² Центральный Сибирский Ботанический Сад СО РАН

d.andreichuk@g.nsu.ru

Многолетние злаки рода *Elymus* отнесены к третичному генпулу (GP-3) по отношению к основным хлебным культурам трибы *Triticeae* Dum. При этом род содержит ряд проблемных таксонов с неясным рангом и родством. Одним из таких видов является *E. lenensis* (Pavlov) Tzvelev, описанный из бассейна реки Лена. Ранее нами было показано, что изменчивость и специфичность нуклеотидных последовательностей малокопийного ядерного гена GBSS1 (*waxy*) среди семи образцов из географически отдаленных точек, морфологически близких по описанию к *E. lenensis*, подтверждает существование обособленного вида (Агафонов и др., 2023). Вместе с тем, в состав вида должны включаться короткоостые формы, не предусмотренные в протологе. На приведенной дендрограмме из семи образцов *E. lenensis*, в кластере субгена St_2 близко расположились пять клонов (кроме клона KRT-1715_5_awnless, который находится вместе с клоном *E. scandicus* KRB-1574_1), а по субгену H_2 шесть клонов сгруппированы вместе, за исключением якутского клона LEN-1520_7. Кроме того, клон магаданского образца МРА-1874_4 сгруппирован с клонами кластера H_1 . В рамках гибридологического исследования была поставлена цель оценить репродуктивные взаимоотношения между биотипами из группы ранее изученных образцов в шести комбинациях скрещивания. Анализировались морфологические признаки и репродуктивные свойства гибридов F_1 и растений в выборках F_2 . Среди гибридов F_1 абсолютно стерильных гибридов не отмечено, наименьшее значение семенной фертильности (СФ) показали 2 растения в комбинации МРА-1874 × KRB-1810 (8 и 10 выполненных зерновок на растение) и 3 растения МРА-1874 × LEN-1520 (9, 13 и 14 зерновок на растении). В выборках F_2 данных комбинаций максимальные значения СФ увеличились до 16,0% и 81,6%, соответственно. При этом стерильные растения присутствовали почти во всех выборках F_2 . Интегральные результаты свидетельствуют, что семь изученных образцов из разных географических точек отвечают признакам существования обособленного вида.

1. Агафонов А. В., Шабанова (Кобозева) Е. В., Андрейчук Д. Д. Таксономическая самостоятельность сибирского вида *Elymus lenensis* (Poaceae) по данным секвенирования ядерного гена GBSS1 (*waxy*) // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии [электрон. науч. журн.], 2023. Т. 22. № 2. С. 5–11. <http://journal.asu.ru/bpssm/issue/view/685>.



Роль естественного отбора в формировании транскриптома децидуальных клеток плаценты

А.А. Бабовская¹, Е.А. Трифонова¹, А.А. Зарубин¹, В.А. Степанов¹

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томского национального исследовательского
медицинского центра, г. Томск, 634050
anastasia.babovskaya@medgenetics.ru

Преэклампсия (ПЭ) является одним из ведущих акушерских осложнений, приводящее к высокой материнской и младенческой смертности. Для ПЭ характерно наличие расовых и этнических различий в частоте встречаемости, одной из причин которых может являться естественный отбор (ЕО). Также известно, что важными патогенетическими звеньями ПЭ являются нарушения децидуализации и созревания децидуальных клеток (ДК). В настоящей работе проведен поиск генов, находящихся под действием ЕО, на основе анализа данных полнотранскриптомного секвенирования (RNA-seq) децидуальных клеток (ДК) плаценты русских и бурятских женщин с физиологической беременностью (ФБ) и ПЭ. Соответствие генов четырем специфическим моделям отбора (направленному, балансирующему, стабилизирующему и дизруптивному) основывалось на методе расчета коэффициентов варибельности, характеризующих внутрииндивидуальную (Net), межиндивидуальную (Nit) и межпопуляционную (Nst) компоненту дисперсии экспрессии каждого гена, предложенном D. Hughes и соавторами [Hughes D. et al., 2015]. Установлено, что большая часть варибельности экспрессии генов ДК согласуется с моделью нейтрального дрейфа, а самым распространенным типом ЕО выступил стабилизирующий, действие которого было зафиксировано для 2,5% транскриптов, найденных в ДК. В совокупности (и для ПЭ и для ФБ) 1232 гена (7,41% от всего транскриптома ДК) находятся под действием ЕО. Примечательно, что только при анализе транскриптов, находящихся под силами дизруптивного отбора, получены одинаковые функциональные категории, как для ФБ, так и для ПЭ. Вероятно эти гены частично связаны с популяционными различиями транскриптома русских и бурят. Кроме того в работе установлено, что гены ДК, находящиеся под действием ЕО и ассоциированные с ПЭ, принимают участие в формировании плаценты, организации сосудистой сети, поддержания иммунологической толерантности и связаны с протеинурией, повышенным гематокритом, мозговыми кровоизлияниями и тромбоцитопенией — категориями, относящимися либо к диагностическим критериям ПЭ, либо к симптомам, сопровождающим наиболее тяжелые варианты течения ПЭ — эклампсию и HELP-синдром, часто обуславливающих летальный исход. Таким образом, проведенный анализ позволил выявить значимую роль ЕО в формировании популяционных особенностей транскриптомного профиля ДК. Можно сделать вывод о том, что ЕО в процессе эволюции действовал на гены, важные для биологии плаценты, дисфункцию которых можно рассматривать как субстрат для возникновения ПЭ.



Геномное разнообразие генов катехолдиоксигеназ у штаммов *Stutzerimonas stutzeri*

Э.В. Бабынин¹, Ю.Р. Гусманова², И.А. Дегтярева³

¹ Казанский (Приволжский) федеральный университет, ФИЦ КазНЦ РАН

² Казанский (Приволжский) федеральный университет

³ ФИЦ КазНЦ РАН

edward.b67@mail.ru

Катехолдиоксигеназы — класс бактериальных железосодержащих ферментов, играющих центральную роль в деградации производных бензола. Присутствие на хромосоме или на плаزمиде генов, кодирующих катехолдиоксигеназы, позволяют почвенным бактериям использовать ароматические соединения в качестве единственных источников углерода, что является ценным свойством этих микроорганизмов в биоремедиации почвы. По механизму расщепления ароматического кольца катехолдиоксигеназы подразделяются на два типа: интрадиолдиоксигеназы, к которым относится катехол-1,2-диоксигеназа (*catA*), и экстрадиолдиоксигеназы, ключевым ферментом этой группы является катехол-2,3-диоксигеназа (*ху1Е*).

Представители семейства *Pseudomonadaceae* различаются по составу генов катехолдиоксигеназ в своих геномах: могут иметь либо один из двух типов ферментов, либо оба типа, а также иметь несколько копий однотипных ферментов. Из базы данных NCBI мы отобрали 77 полных геномов штаммов *Stutzerimonas stutzeri*, видовая принадлежность которых согласно сайту NCBI не вызывает сомнения. В геномах всех штаммов этого вида бактерий присутствовал ген *catA*, что позволяет предположить, что катехол-1,2-диоксигеназа является видоспецифичной для *S. stutzeri*. Только 17% из обследованных штаммов содержали оба гена. Построение филогенетического дерева на основе полногеномного выравнивания показало, что геномы, содержащие *ху1Е*, не образуют единого кластера на филогенетическом дереве и, следовательно, гены *ху1Е* у этих штаммов имеют независимое происхождение. Независимое происхождение в результате горизонтального переноса подтверждается также тем, что на филогенетическом дереве гены *ху1Е* формируют четыре кластера, каждый из которых обладает высокой степенью сходства по нуклеотидным последовательностям с генами *ху1Е* разных видов рода *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*, *P. veronii*, *P. oleovorans* и *P. putida*). Ген *ху1Е* из этих четырех кластеров у штаммов *S. stutzeri* входит в состав геномных островков, которые имеют коровый набор из 9 генов, принимающих участие в биodeградации углеводородов.



Сопоставление митоза и мейоза при изучении многообразия млекопитающих на примере некоторых представителей грызунов

В.М. Малыгин¹, М.И. Баскевич², Л.Д. Сафронова², Е.В. Черепанова²

¹ МГУ им. М.В. Ломоносова, 119992, Москва, РФ

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

mbaskevich@mail.ru

Большой вклад в изучение биологического разнообразия млекопитающих внесли хромосомные методы исследования, основанные, главным образом, на исследовании митоза. В частности, митоз был изучен у 5,5 тысяч видов млекопитающих (Matthey, 1956, (Орлов, Булатова, 1983, и др.), что позволило в ряде случаев уточнить таксономический статус сомнительных форм, обнаружив у них в митотических метафазах уникальное число хромосом и их морфологию. Однако поведение хромосом в мейозе, приводящее к формированию гамет, в т. ч. с привлечением анализа его ключевой стадии профазы I мейоза и изучения синаптемных комплексов (СК), в большинстве случаев оставалось вне интересов ученых. Изучение мейоза на основе СК-анализа, обладает более высокой разрешающей способностью по сравнению с исследованием митоза, но, в целом, они дополняют друг друга. Сопоставляя митоз и мейоз, мы можем глубже познать биологическое разнообразие млекопитающих. В настоящем сообщении представлены и анализируются собственные и литературные митотические и мейотические данные по ряду представителей грызунов: кустарниковых полевок Кавказа (подрод *Terricola* р. *Microtus*), хомячков р. *Phodopus*. Видовое разнообразие кустарниковых полевок Кавказа на протяжении длительного времени вызывало противоречивые суждения (Огнев, 1950, Ellermann-Scott, 1951, и др.). Проведенное нами (Баскевич и др., 1984; 2015) и коллегами (Иванов, Темботов, 1972, Ахвердян и др., 1992) изучение митоза у представителей таксона в Кавказском регионе, внесло коррективы в представления об их таксономии. Были выделены лесной вид *M. (T.) majori* с постоянным хромосомным набором ($2n = 54$, $NF = 60$) и субальпийский *M. (T.) daghestanicus*, представленный 11 кариоморфами, различающимися по числу хромосом ($2n = 38-54$) при постоянном числе плеч хромосом $NF = 58$ (так называемый Робертсоновский веер). Гибридизация между видами в природе не обнаружена (Хатухов и др., 1978, Баскевич и др., 1984), в эксперименте затруднительна, а между представителями Робертсоновского веера осуществляется значительно легче. Анализ мейоза у полученных в эксперименте гибридных особей продемонстрировал весомый вклад ПИ и незначительный РТ в формирование изолирующих механизмов между исследованными представителями подрода *Terricola*. (Малыгин и др., 2000, наши данные). Второй модельной группой грызунов послужили хомячки р. *Phodopus*: *Ph. sungorus* и *Ph. campbelli*. В митотических метафазах у них одинаковое число хромосом $2n = 28$. Незначительные отличия метафазных хромосом у этих видов заключаются в особенностях морфологии и характере G-исчерченности аутосомных пар № 12 и 13 и гетерохромосом. У всех гибридов F1 хомячков *Phodopus sungorus* и *Ph. campbelli* и половины гибридов возвратного скрещивания наблюдалась стерильность (Черепанова, 2001). Анализ синапсиса и конъюгации аутосом и половых хромосом при ЭМ анализе сперматоцитов стерильных гибридов F1 и бэккроссов не выявил аномальных конфигураций СК аутосом 12-й и 13-й пар (по данным СМ, на стадии диакинеза эти аутосомы также всегда присутствовали как биваленты), тогда как синапсис половых хромосом на стадии пахитены и их ассоциация на стадии диакинеза у всех стерильных гибридов F1 и бэккроссов были нарушены. У фертильных гибридных особей ни разу не было обнаружено нарушений синапсиса половых хромосом на стадии пахитены, и лишь изредка наблюдалась их диссоциация на стадии диакинеза. Предполагается, что синапсису и конъюгации половых хромосом у гибридов препятствуют видовые различия в морфологии X и Y хромосом *Ph. campbelli* и *Ph. sungorus*.



Межвидовая дифференциация промысловых рыб рода *Coregonus* (*C. muksun*, *C. pidschian*) методом SCoT-праймеров

Е.О. Белякова¹, А.А. Жукова¹

¹ ФГБОУ ВО «Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена», Санкт-Петербургский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («ГосНИОРХ») им. Л.С. Берга)

it_aliona@mail.ru

Рода сиговых рыб (семейство Coregonidae) имеют сложную внутривидовую структуру. Таксономический статус многих форм остается неясным. Так, рассматривая экологические и морфологические особенности муксуна (*Coregonus muksun*) и пыжьяна (*Coregonus pidschian*), учёные пришли к выводу, что это два разных вида. Однако некоторые результаты молекулярно-генетических исследований говорят о том, что муксун и пыжьян генетически близки [1]. Для рационального использования ресурсов природных популяций и в аквакультуре необходимы более корректные данные о таксономическом статусе этих видов. Целью нашего исследования является поиск SCoT-маркеров для дифференциации *C. pidschian* и *C. muksun*.

Для выявления генетического полиморфизма исследуемых рыб использовали 11 последовательностей SCoT-праймеров: 1–7,10,13,12,22 [2]. За время работы было протестировано 66 вариантов пар. Праймеры тестировали на 4х выделенных образцах *C. muksun* и 4х образцах *C. pidschian*. Полимеразную цепную реакцию проводили в амплификаторе Biorad T100 MyCycler в 20 мкл. реакционной смеси. Пробы проверяли в 2% агарозном геле на 1хTBE-буфере. Окрашивали флюоресцентным красителем ДНК NonTox. Визуализацию и фиксацию осуществляли с помощью трансиллюминатора BioRad. Профили каталогизировали для дальнейшего анализа и отбора праймеров.

В результате анализа ПЦР-продуктов было обнаружено, что из всех рассмотренных праймеров только пара 2+10 показала чёткую дифференциацию между пыжьяном и муксуном. SCoT-праймеры определили зону у *C. pidschian* с длиной фрагмента ≈ 700 п.н., а у *C. muksun* — 1100 п.н. Полученные данные подкрепляют гипотезу о принадлежности муксуна и пыжьяна к двум разным видам.

1. Балдина С. Н. Внутривидовая генетическая дифференциация и филогеография сигов (р. *Coregonus*) Сибири: автореферат дис. кандидата биологических наук: 03.02.07 — Москва, 2010. — 23 с.
2. Collard B. C., Mackill D. J. Start Codon Targeted (SCOT) polymorphism: A simple novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants // Plant Molecular Biology 2009. — V. 27. — P. 86–93.



Анализ моделей укороченной изоформы белка Nxf1 различных представителей *Metazoa* и таксономические различия

Д.Д. Бондарук¹, Е.В. Голубкова¹, Л.А. Мамон¹, Д.И. Пелле¹, А.В. Васильев¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9
d.d.bondaruk@yandex.ru

Основным продуктом гена *Nxf1* (*Nuclear eXport Factor*) является белок — NXF1. NXF1, вместе с белком-партнёром NXT1 (*Nuclear eXport Transport*) образует димер NXF1-NXT1, в составе которого осуществляет перенос мРНК из ядра в цитоплазму. Гены-ортологи *Nxf1* известны у многих представителей *Opisthokonta*, нескольких представителей *Amoebozoa* и даже были обнаружены у видов за пределами домена *Amorphea*, — в трех разных родах (*Trypanosoma*, *Naegleria* и *Leishmania*), принадлежащих к группе *Discoba*. Во всех случаях ортологи NXF1, такие как *Saccharomyces cerevisiae* MEX 67 (*Messenger RNA EXport factor of 67 kDa*), также функционируют в составе димеров и участвуют в обеспечении ядерно-цитоплазматического транспорта. Участие в экспорте мРНК является эволюционно-консервативной функцией NXF1, а димер MEX67/MTR2 предположительно возник ещё у общего предка *Amorphea* и *Discoba*. В норме белок NXF1 включает четыре функциональных домена: RRM (*RNA Recognition Motif*); LLR (*leucine-rich repeats*); NTF2-like (*nuclear transport factor 2-like*); UBA-like (*ubiquitin-associated-like*), однако существует также альтернативная, укороченная изоформа — sNXF1 (*short*), включающая только два домена — RRM, и большую часть LLR. sNXF1 образуется в результате трансляции интрон-сохраняющего транскрипта, существование которого является характерной особенностью *Nxf1*. Примечательно, что в составе последовательности интрона присутствует преждевременный стоп-кодон, а у млекопитающих также отмечалось наличие специфической последовательности CTE (*Constitutive Transport Element*), позволяющей данному транскрипту избегать NMD (*Nonsense Mediated Decay*). Предполагается, что sNXF1 имеет функции, отличные от функций конститутивного белка, установлен факт его нейроспецифичности. Таким образом, анализ структуры sNXF1 и исследование эволюции генов семейства *Nxf* имеет значение для фундаментальной науки и в перспективе может помочь в изучении эволюции нервной системы. Нашей исследовательской группой было установлено, что по своему нуклеотидному составу последовательности гена *Nxf1* и его ортологов могут значительно отличаться у представителей разных таксонов *Metazoa*, однако эти гены сохраняют значительное сходство на уровне структурной организации.



Применение метода SCoT-праймеров для генетической дифференциации ряпушки (*C. albula*, *C. sardinella*)

К. В. Вульф¹, А. А. Жукова²

¹ Санкт-Петербургский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («ГосНИОРХ») им. Л. С. Берга) Санкт-Петербург, Россия.

² ФГБОУ ВО «Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена», Санкт-Петербург, Россия
qbertggg@gmail.com

Представители сиговых рыб (семейство Coregonidae) отличаются значительной экологической пластичностью и являются относительно молодыми близкородственными видами, что существенно осложняет их дифференцировку внутри таксонов [1]. Видовой статус европейской (*Coregonus albula*) и сибирской ряпушки (*Coregonus sardinella*) обсуждается с 1970-х годов, так как крупные формы ряпушки активно использовали для зарыбления водоёмов. Для контроля и мониторинга популяций интродуцированных рыб требуются корректные данные об их таксономическом статусе. Целью настоящего исследования является поиск генетических маркеров в ядерном геноме для дифференциации *C. albula* и *C. sardinella*.

Выделение ядерной ДНК проводилась солевым методом [2]. Для анализа образцов ряпушки из бассейна реки Лены (10 шт.) и Ладожского и Онежского озёр (10 шт.) был выбран метод SCoT-праймеров (англ. SCoT — start codon targeted) [3]. Для визуализации полученных участков использовали 2% агарозный гель.

В результате анализа ПЦР-продуктов 16-ти комбинаций из 11 SCoT-праймеров достоверный генетический полиморфизм между *C. albula* и *C. sardinella* не выявлен. В большинстве случаев отмечалось сходство генетических профилей ряпушки европейской и ряпушки сибирской. Полученные данные дополняют сведения об отсутствии качественных различий между ряпушками Европы и Сибири на основании генетических и морфологических маркеров, что укрепляет гипотезу о принадлежности этих форм к одному виду [4].

- [1] Боровикова Е. А., Махров А. А. Систематическое положение и происхождение сигов (*Coregonus*) Европы: морфоэкологический подход // Труды КарНЦ РАН. 2013.
- [2] Aljanabi S. M., Martinez I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques // Nucleic Acids Res. — 1997. — V. 25. — P. 4692–4693.
- [3] Collard B. C., Mackill D. J. Start Codon Targeted (SCOT) polymorphism: A simple novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants // Plant Molecular Biology 2009. — V. 27. — P. 86–93.
- [4] Боровикова Е. А., Махров А. А. Систематическое положение и происхождение сигов (*Coregonus*, *Coregonidae*, *Osteichthyes*) Европы. Генетический подход // Успехи современной биологии. 2009. Т. 129, № 1. С. 58–66.



Генетический полиморфизм муксуна (*C. muksun*) и пыжьяна (*C. pidschian*), сем. Coregonidae

А.А. Жукова^{1,2}, О.В. Апаликова²

¹ ФГБОУ ВО «Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена»

² Санкт-Петербургский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («ГосНИОРХ») им. Л.С. Берга)

gatteriyagreen@gmail.com

Вопрос о видовой дифференциации муксуна (*Coregonus muksun*) и пыжьяна (*Coregonus pidschian*) с помощью молекулярно-генетических маркеров представляет эволюционный, популяционный, а также практический интерес. Целью данного исследования является поиск ядерных маркеров для генетической дифференциации *C. pidschian* и *C. muksun*.

Метод ПДРФ-анализа позволил выделить гаплотипы изучаемых рыб (не опубликованные данные). Для данного исследования были отобраны образцы всех гаплотипов. Первым этапом в поиске новых маркерных систем на основании ядерного генома явилось использование SCoT-праймеров [1]. Данный метод позволяет визуализировать генетический полиморфизм организмов без применения секвенирования. Чтобы валидировать различия профилей, полученные с отобранной парой праймеров, амплифицированные участки ДНК *C. muksun* были выделены из геля и отсеквенированы. В результате проверки ДНК прочтений системой BLAST на сервере NCBI было показано, что полученный нами участок действительно принадлежит роду *Coregonus*.

Вторым этапом генотипирования муксуна и пыжьяна явилось определение их первичной последовательности рибосомных генов (рДНК), так как в международном генетическом банке (GeneBank) аннотированных данных этого участка не представлено. Рибосомная ДНК содержит как высококонсервативные (18S, 5.8S, 28S) участки, так и полиморфные (межгенные и внутренние спейсеры), что позволяет использовать эту последовательность в качестве маркерной для различных таксономических категорий. Дизайн специфических праймеров создавали с использованием последовательностей рДНК *Coregonus albula* (JQ731755.1, MZ005754.1), депонированных в GeneBank. В результате амплификации и секвенирования был получен участок 18S муксуна и пыжьяна длиной 870 п. н. Гомология составила 71%.

Планируется собрать полный кластер рДНК обоих видов, аннотировать полученные первичные последовательности в GeneBank. В качестве третьего этапа генотипирования намечено проведение фрагментного анализа ДНК.

- [1] Collard B. C., Mackill D. J. Start Codon Targeted (SCOT) polymorphism: A simple novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants // Plant Molecular Biology 2009. — V. 27. — P. 86–93.1



Интеграция репитомных и цитогенетических данных для сравнительного анализа геномов видов *S. officinalis* L. и *S. sclarea* L.

Ю.В. Кальнюк¹, О.Ю. Юркевич¹, Т.Е. Саматадзе¹, С.А. Зошук¹, А.В. Амосова¹, О.В. Муравенко¹

¹ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, г. Москва, Россия

julia99kalniuk99@yandex.ru

Шалфей лекарственный (*S. officinalis* L.) и шалфей мускатный (*S. sclarea* L.) — хорошо известные эфиромасличные виды рода Шалфей (*Salvia* L.). Эти виды на территории РФ возделываются или произрастают в дикорастущем виде, как интродуценты. Шалфей лекарственный и шалфей мускатный широко применяются в фармацевтической, пищевой, косметической и других промышленности, поэтому актуален вопрос о создании новых сортов с нужными признаками, что требует комплексных исследований геномов этих видов.

С недавнего времени начато изучение геномов разных видов шалфеев и делаются попытки установить филогенетические отношения внутри этого огромного рода. Тем не менее, из-за малых размеров хромосом кариотипы *S. officinalis* L. и *S. sclarea* L., остаются недостаточно изученными до сих пор. Для прояснения геномных взаимоотношений *S. officinalis* L. и *S. sclarea* L. мы впервые провели сравнительный анализ репитомов *S. officinalis* и *S. sclarea* с использованием программы RepeatExplorer/TAREAN. Полученные результаты показали, что у обоих видов наиболее распространенными повторяющимися последовательностями ДНК являются ретротранспозоны, однако их количество отличается, к тому же в *S. officinalis* ретроэлементы Ty3-Gypsy примерно в шесть раз более распространены, чем ретроэлементы Ty1-Copia, а у *S. sclarea* Ty1-copia более чем в два раза превышает Ty3-gypsy. Различия обнаружались и в содержании неклассифицированных LTR-ретроэлементов, рибосомной ДНК и сатДНК. Также были идентифицированы 12 сатДНК в репитоме *S. officinalis* и 4 сатДНК в репитоме *S. sclarea*, среди которых обнаружена одна сатДНК с высокой степенью гомологии для обоих видов. Далее был проведен сравнительный анализ кариотипов *S. officinalis* и *S. sclarea* с применением FISH с зондами рДНК и выявленными сатДНК. Выявлены сатДНК, которые могут быть использованы в качестве молекулярных маркеров хромосом изученных видов. Специфическая локализация гомологичной сатДНК и 45S рДНК на хромосомах исследованных видов *Salvia* подтвердила их общее происхождение.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках проекта № 22-26-00222.



Ведущая роль хромосомных перестроек при быстром видообразовании в роде *Alexandromys* (Rodentia, Microtinae)

И.В. Картавецца¹

¹ ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, Росси, Владивосток, Проспект 100 лет Владивостоку 159
kartavtseva@biosoil.ru

Морфологические, гибридизационные, хромосомные данные, а также генетический анализ ядерной и мт-ДНК показали независимость азиатской филогенетической линии серых полевок рода *Microtus*, подняв таксономический уровень восточноазиатских полевок подрода *Alexandromys* Ognev, 1914 до рода (Абрамсон, Лисовский 2012). Согласно генетическим данным, отделение *Alexandromys* произошло примерно 1,2 млн лет назад (Банникова и др., 2010), и важную роль в видообразовании сыграли хромосомные перестройки. Каждый вид имеет свои хромосомные характеристики, позволяющие четко дифференцировать морфологически сходные виды: *A. montebelli* ($2n = 30$, $NFa = 54$), *A. kikuchii* ($2n = 30$, $NFa = 48$), *A. sachalinensis* ($2n = 50$, $NFa = 60$), *A. gromovi* ($2n = 44$, $NFa = 58$), *A. oeconomus* ($2n = 30-32$, $NFa = 58$).

A. mongolicus ($2n = 49-50$, $NFa = 56$), *A. fortis* ($2n = 52$, $NFa = 62-64$), *A. middendorffii* ($2n = 50$, $NFa = 54-56$), *A. limnophilus* ($2n = 38$, $NFa = 56-58$), *A. mujanensis* ($2n = 38$, $NFa = 46-50$), *A. evoronensis* ($2n = 36-41$, $NFa = 51-54$) и *A. maximowiczii* ($2n = 36-44$, $NFa = 50-60$). Среди 12 видов этих полевок последние три вида, по данным молекулярного анализа, отделившихся сравнительно недавно, имеют очень короткие генетические дистанции и слабые морфологические различия (Lisovsky et al., 2018). Эти данные позволили предположить, что эти три таксона должны относиться к одному виду — *A. maximowiczii*. Гибридологический анализ всех сочетаний скрещивания этих видов показал стерильность F1 (Bikchurina et al., 2023), и, согласно биологической концепции, все три вида остаются валидными. В этой же работе исследован синапсис всех межвидовых гибридов самцов, которые имели сложные гетерозиготы по ряду хромосомных перестроек и которые проявляли признаки полной стерильности. Сперматогенез задерживался преимущественно на зиготено- или пахитеноподобных стадиях из-за образования сложных мультивалентных цепей. Было предположено, что асинапсис хромосом явился основной причиной остановки мейоза и мужской стерильности у межвидовых гибридов. Эти данные подтвердили возможность быстрого видообразования у млекопитающих, что не согласуется с общепринятым мнением (для образования вида необходимо около 1 млн лет.). Интересно, что для *A. evoronensis* недавно были описаны две хромосомные расы — Эворон (Картавецца и др., 2021) и Арги (Kartavtseva et al., 2021), имеющие множественный хромосомный полиморфизм, различающиеся разными числом хромосом и различными структурными перестройками. Гибридные особи двух хромосомных рас, полученные в лабораторных условиях от одной пары в каждом случае, имеющие небольшое число известных для вида перестроек, в основном не были стерильны (Bikchurina et al., 2023). Две хромосомные расы изолированы и располагаются в долинах рек противоположных склонов Буреинского хребта (восточного и западного), в Хабаровском крае и представляют интерес для дальнейших микроэволюционных исследований на организменном, клеточном и молекулярном уровнях.



Биоинформатический анализ повторяющихся последовательностей криптических видов малярийных комаров *Anopheles messeae* и *Anopheles*

К.М. Кириленко¹, Д.Н. Старков¹, Г.Н. Артемов¹, И.В. Шарахов¹

¹ Томский Государственный Университет
kirillkirilenko.tomsk@gmail.com

Малярийные комары *Anopheles messeae* и *An. daciae* относятся к группе видов-близнецов *Maculipennis*, широко распространены в Евразии, являются переносчиками паразитических нематод *Dirofilaria*, *Plasmodium*. Поскольку в настоящее время виды идентифицируют по 5 позициям в нуклеотидной последовательности ITS2, необходим поиск дополнительных генетических маркеров для разделения этих видов. Кроме того, представляет интерес проследить трансформацию генома, которая могла сопровождать видообразование в этой группе. Повторенные последовательности генома являются наиболее перспективными для поиска таких различий, поскольку обладают большей скоростью эволюции и выполняют регуляторную функцию по отношению к кодирующим генам. В настоящем исследовании изучены сателлитные повторы в геномах самок и самцов Европейских популяций *An. messeae* и *An. daciae* и в Сибирской популяции *An. messeae*.

Короткие прочтения геномов *An. messeae* из популяции г. Томска получены на платформе Illumina (Novogene, Китай), прочтения геномов *An. messeae* и *An. daciae* Московской популяции получены из базы данных SRA NCBI. Для поиска и аннотации повторов в коротких прочтениях использовался пайплайн Comparative Analysis RepeatExplorer2 с порогом встречаемости повтора 0,01% длины генома (Novak et al. 2020). Для поиска микросателлитов использовалась программа RepeatMasker. Kimura-2-parameter (k2p) для каждого обнаруженного повтора считался с помощью скрипта calcDivergenceFromAlign.pl программы RepeatMasker. Для статистической оценки k2p использовался метод бутстрэп.

RepeatExplorer2 обнаружил 109 кластеров (повторов), среди которых большую часть занимает фракция сателлитной ДНК. Различий по числу кластеров не было обнаружено ни между видами, ни между популяциями. Сателлитная ДНК занимает около 10% всего генома *An. messeae* и *An. daciae*, и из них менее 0,01% — микросателлиты. Всего обнаружено 32 кластера сателлитов. Значимых отличий по критерию k2p не обнаружено между сравниваемыми группами для всех сателлитных кластеров. Среди 32 сателлитных кластеров 12 имеют длину консенсуса 53 нкд, не имеющих между друг другом гомологии, при этом последовательность консенсусов всех двенадцати не имела гомологии.

Отсутствие различий в сателлитных повторах подтверждает тесную филогенетическую связь между *An. messeae* и *An. daciae*, продемонстрированную ранее (Yurchenko et al., 2023). Распространение в геномах повторов определенной длины консенсуса свидетельствует о некой биологической роли, которую могут выполнять такие повторы.

Исследование выполнено при поддержке Программы развития Томского государственного университета (Приоритет-2030).



Идентификация последовательностей, входящих в конститутивный гетерохроматин генома японского перепела

М.М. Кулак¹, С.А. Галкина²

¹ БИН РАН, Научный Парк СПбГУ, РЦКП «Хромас», Санкт-Петербург

² Кафедра генетики и биотехнологии Санкт-Петербургского государственного университета, СПбГУ
ontica@mail.ru

Ключевые слова: гетерохроматин, повторяющаяся ДНК, рибосомные гены, рассеянные повторы, транспозоны.

Японский перепел *Coturnix japonica*, популярный модельный вид для большого круга биологических исследований. Характеризуется бимодальным кариотипом $2n = 78$, представленным восемью парами макрохромосом СJA1–8, половыми хромосомами СJAW и СJAZ и множеством субметацентрических микрохромосом. Размер генома перепела несколько больше, чем обычно у птиц: по сравнению с курицей в геноме перепела произошло заметное накопление гетерохроматина, что привело к его увеличению на 1/7 часть (1.41 пкг vs 1.25 пкг). Выраженные блоки гетерохроматина у перепела формируют преимущественно короткие плечи субметацентрических микрохромосом, а также перицентромерные и прителомерные области макро- и микрохромосом.

Ранее мы идентифицировали наиболее распространенные тандемные повторы в геноме перепела с содержанием > 1 млн п. н. В общем они составляют около 5% генома (Kulak et al., 2022). Охарактеризован тандемный повтор СjarSAT, который входит в состав прицентромерных районов макрохромосом СJA1–8. Тандемные повторы Сjar31B, вместе с ранее описанным *BgII*, формируют прицентромерные районы микрохромосом и W-хромосомы. Остальные повторы составляют гетерохроматин коротких плеч микрохромосом в неравных пропорциях, что выявлено методом флуоресценции гибридизации *in situ* (FISH). Последовательности повторов Сjar84A, Сjar408A и СjarSAT содержат фрагменты вырожденных ретротранспозонов.

Мы обнаружили, что фрагменты генов ядрышкового организатора тоже входят в состав гетерохроматина коротких плеч микрохромосом. С целью точной идентификации таких последовательностей мы клонировали последовательности из ПЦР-амплификата, который получили с использованием праймеров к гену 18S рРНК. Были выявлены химерные последовательности, состоящие из коротких фрагментов гена 18S рРНК, рассеянных повторов CR1-F2, CR1-Y2, CR1-Y4, а также мобильных элементов семейств Gypsy и ChrAsi. Локализация отдельных химерных последовательностей в составе коротких плеч микрохромосом была подтверждена с помощью FISH. Наши данные говорят о том, что, по всей видимости, ретроэлементы сыграли решающую роль в перераспределении тандемных повторов по геному японского перепела.

Авторы выражают благодарность Ресурсному центру «Хромас» научного парка СПбГУ.



Видоспецифичные маркеры мейотических хромосом трех видов гадюк рода *Vipera*

И.В. Редекон¹, О.Л. Коломиец¹, В.Е. Спангенберг¹

¹ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, 119991
redekopila@gmail.com

На территории России по различным данным обитает от пяти до десяти видов гадюк из рода *Vipera*. Молекулярно-биологические методы не дают однозначных ответов о видовом статусе некоторых форм из-за минорных отличий между ними. Ранее цитогенетические работы проводились на митотических метафазных хромосомах. С другой стороны, детальный анализ мейотических кариотипов (препаратов синаптонемных комплексов, СК) позволил уточнить данные предыдущих работ. Нами были обнаружены новые видоспецифические маркеры, выявляемые только на СК-кариотипах [1]. В ходе данной работы были исследованы особенности мейотических хромосом, белковые и ДНК-маркеры синаптонемных комплексов трех видов гадюк из рода *Vipera* (*V. berus*, *V. nikolskii*, *V. renardi*).

Первый из обнаруженных нами маркеров, блок гетерохроматина, локализованный на шестом биваленте — HR6, был обнаружен у *V. berus* в 2022 г. [1] В 2023 году данный маркер был исследован и у двух других видов. Однако, несмотря на одинаковую локализацию, его морфология различается между видами. Для *V. berus* и *V. renardi* характерен единичный блок, тогда как у *V. nikolskii* наблюдается два близко расположенных, меньших по размеру блока. Вторым новым маркером — блок гетерохроматина на биваленте 2 — HR2, характерный только для *V. renardi*, отличающийся по форме и размеру от HR6. Данный признак различает *V. renardi* от *V. berus*. Отличия между видами гадюк наблюдаются и в локализации ядрышкового организатора, иммуноокрашенного антителами к белку фибрилларину. Так, у *V. berus* локализация ЯОР наблюдается на микробиваленте 17. У *V. nikolskii* и *V. renardi* данный маркер локализован на микробиваленте 15. Важно отметить, что идентификация микробивалентов стала возможна только на СК-кариотипах [1].

Исследование числа сайтов кроссинговера в пахитенных ядрах сперматоцитов показало статистически значимые различия по этому маркеру между видами. У *V. berus* в среднем 49,5 сайтов MLN1 на ядро, у *V. nikolskii* — 44,6, у *V. renardi* — 41,0.

Наше исследование сперматоцитов I трех видов гадюк из разных локалитетов позволяют исключить внутривидовой полиморфизм по данным признакам. Это может говорить о данных маркерах как о видоспецифичных, которые могут разрешить длительную дискуссию о систематическом положении таксонов в роде *Vipera*.

[1] Spangenberg, V., Redekop, I., Simanovsky, S. A., & Kolomiets, O. (2022). Cytogenetic Analysis of the Bimodal Karyotype of the Common European Adder, *Vipera berus* (Viperidae). *Animals*, 12(24), 3563.

Работа частично поддержана грантом РНФ 22-14-00227, а также выполнена в рамках государственного задания (ИОГен РАН) № 0092–2022–0002.



Полиплоидизация как результат расселения растений в антропогенно нарушенные районы высокогорья

Н.В. Реутова¹, М.Б. Малаева¹, Ф.Р. Дреева¹, Т.В. Реутова¹, П.М. Джамбетова²

¹ Федеральный научный центр «Кабардино-Балкарский научный центр Российской академии наук»

² Чеченский государственный университет

reutova371@mail.ru

Вопрос влияния высотной поясности на хромосомные числа растений является спорным. В ряде работ приводятся данные о преобладании диплоидных видов в высокогорных популяциях по сравнению с низкорослыми. С другой стороны, имеется целый ряд работ, доказывающих, что полиплоидия способствует успеху полиплоидных растений при их инвазии в новые значительно нарушенные территории с нестабильными условиями существования.

Нами изучены хромосомные числа растений одуванчика лекарственного *Taraxacum officinale* Wigg, обитающего на высотах 200, 600, 1300, 2050, 2700 и 3050 м над уровнем моря. Высоты до 2000 м являются естественными местообитаниями данного вида. При строительстве канатных дорог представители этого вида поднялись до высот 2700 и 3050 м и произрастают только на нарушенных строительством участках, прилегающих к станциям канатных дорог. Возраст этих популяций 50–60 лет.

До высоты 2050 м включительно практически все растения являются триплоидами. На высоте 2700 м преобладают растения с $4n$ и $9n$. На высоте 3050 м растения только с набором $9n$ и $12n$. Взаимный перенос семян в этих популяциях с более низкорасположенной популяции (2050 м) происходит постоянно, но преимущественно выживают только высокополиплоидные растения. В естественных условиях существования они не имеют преимуществ.

Предполагается, что генетическая избыточность и полисомное наследование являются лишь переходными эволюционными стадиями в жизни автополиплоида. Возможно, в будущей долгосрочной перспективе эти популяции либо исчезнут, поскольку полиплоидия, по мнению ряда авторов, является эволюционным тупиком, либо подвергнутся процессу длительной диплоидизации, поскольку полиплоидия является транзитной стадией и способствует анеуплоидии. Подтверждением этой точки зрения является аборигенный вид одуванчик мелко-рассеченный (*Taraxacum tenuisectum* Somm.et Lev.), обитающий на высоте 3000 м и являющийся триплоидом.

По-видимому, на ранних этапах инвазии преимущество имеют полиплоидные растения, а в длительной перспективе — более стабильные низкополиплоидные виды.



Анализ эволюционной вариабельности длины теломер у модельных мохообразных

А.В. Санникова¹, М.Р. Шарипова¹, Е.В. Шакиров^{2, 1}, Л.Р. Валева^{2, 1}

¹ Казанский (Приволжский) Федеральный Университет

² Department of Biological Sciences, College of Science. Marshall University

anastasya.sannikova@bk.ru

Теломеры — нуклео-протеиновые структуры на концах линейных хромосом эукариотических организмов. Они играют важную роль в защите целостности генома и контролируют репликативное старение клеток. Изучение модельного растения *Arabidopsis thaliana* внесло значительный вклад в понимание биологии теломер растений, однако многие вопросы об эволюции этих структур остаются до конца нераскрытыми. В свою очередь, использование новых модельных растительных организмов позволяет по-новому взглянуть на биологию теломер растений через призму эволюции. Одними из наиболее перспективных модельных растений для изучения биологии теломер являются представители отдела мохообразных, поскольку они формируют наиболее древнюю группу наземных растений, эволюция которой шла параллельно с другими группами высших растений.

Целью работы было провести анализ длины теломер различных представителей модельных мохообразных: *Physcomitrium patens*, *Ceratodon purpureus*, мхов рода *Sphagnum* и печеночника *Marchantia polymorpha*. Сравнительный анализ длины теломер проводили методом TRF (Terminal Restriction Fragment analysis) совместно с Саузерн-блот анализом.

Мы показали, что для изученных бриофитов характерны более короткие теломеры (430–3900 п. н.) по сравнению с *A. thaliana* (2000–9000 п. н.). У четырех экотипов *P. patens* длина теломер имеет незначительную внутривидовую изменчивость, однако показано различие в количестве и длине интерстициальных теломерных последовательностей (ITS). Анализ длины теломер четырех природных изолятов *C. purpureus* показал различие в длине теломер, а также наличие большого количества ITS различной длины, что нехарактерно для растительного царства. Кроме того, обнаружено, что длина теломер двудомных растений *M. polymorpha* существенно различается у мужского и женского растения. Также было показано, что для трех представителей рода *Sphagnum*, дивергировавших от других мохообразных 250–350 млн лет назад, характерна вариабельная длина теломер, что указывает на естественное различие в длине теломер между видами *Sphagnum*. Анализ динамики длины теломер в протонеме *P. patens* (экотип Reute) и *C. purpureus* показал, что средняя длина теломер поддерживается на нормальном уровне в течение развития активно растущих тканей растений, что указывает на строгий контроль регуляции длины теломер. Кроме того, длина теломер у изученных растений не меняется в ходе долгосрочного вегетативного культивирования в лабораторных условиях.

Таким образом, мы установили, что для модельных бриофитов короткие теломеры показали существенные внутривидовые и межвидовые различия в длине теломер у всех проанализированных видов. Полученные данные будут использованы для дальнейшего изучения эволюции теломерного комплекса растений с использованием бриофитов как новых модельных систем.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).



Анализ инвертированных синтенных блоков в X хромосоме малярийного комара *Anopheles messeae*

Е.С. Соболева¹, И.В. Шарахов^{1,2}, Г.Н. Артемов¹

¹ Лаборатория эволюционной цитогенетики, ТГУ, Томск, Россия

² Политехнический университет Виргинии (Virginia Tech), Блэксбург, США

jane.sable.me@gmail.com

Изучение геномной архитектуры и эволюционных изменений в популяциях малярийных комаров рода *Anopheles* представляет интерес для понимания механизмов видообразования и адаптации. Хромосомные инверсии важны для адаптации комаров и влияют на распространение видов, а также на их способность переносить возбудителей заболеваний. Аспекты, связанные с происхождением, эволюцией и функциональными последствиями инверсий, остаются недостаточно изученными. Нами обнаружено, что виды-двойники *Anopheles atroparvus* и *An. messeae*, принадлежащие к подгруппе *Maculipennis*, отличаются по положению и ориентации двух небольших синтенных блоков в X хромосоме, образованных двумя вложенными инверсиями. Были определены координаты точек разрывов этих фиксированных инверсий в геноме *An. atroparvus* (Soboleva et al., 2023). Однако неизвестно, на каком этапе филогенеза подгруппы *Maculipennis* эти перестройки возникли, а также могли ли районы, содержащие точки разрыва этих инверсий (BRs), быть вовлечены в хромосомные перестройки ранее в эволюционной истории малярийных комаров, то есть использоваться повторно. Кроме того, представляет интерес проанализировать функциональные свойства белков, кодируемых генами синтенных блоков, которые претерпели значительную перестройку у *An. messeae*, для понимания причин фиксации инверсий. Определение времени возникновения вложенных инверсий в подгруппе *Maculipennis* было проведено с помощью локализация ортологов генов, фланкирующих BRs у *An. atroparvus*, на X хромосоме близкородственных видов *An. maculipennis* и *An. beklemishevi*. Для анализа повторного участия BRs в хромосомных перестройках проанализировано расположение ортологов тех же генов у 12 видов *Anopheles*, а также *Culex quinquefasciatus* и *Aedes aegypti* с помощью алгоритма OrthoMCL в геномном браузере VectorBase. Исследование геномной онтологии было выполнено с помощью GeneOntology в VectorBase. Результаты локализации ортологов генов, фланкирующих фиксированные инверсии *An. messeae* показали отсутствие подобных перестроек в X хромосоме и у *An. maculipennis*, и у *An. beklemishevi*, то есть их порядок соответствовал *An. atroparvus*. Таким образом, изучаемые фиксированные инверсии в X хромосоме возникли впервые в ветви *An. messeae*, то есть не ранее 7,5 млн. лет назад (Yurchenko et al., 2023). Анализ возможного повторного использования четырех районов разрыва инверсий (BRI, BRII, BRIII, BRIV) дал следующие результаты. Разрыв в BRI произошел только у представителей комплекса *gambiae* и *Ae. aegypti*. Различия в целостности BRII наблюдали у пар филогенетически близких *An. gambiae*-*An. coluzzii* и *An. funestus*-*An. moucheti*. Все 14 видов комаров демонстрировали хорошую ортологию и отсутствие разрывов в BRIII, так что у *An. messeae*, по-видимому, разрыв в этом районе произошел впервые. Разрыв в BRIV характерен для всех видов, кроме *An. stephensi*, *An. sinensis* и *An. atroparvus* (фланги BRIV у *An. maculipennis* и *An. beklemishevi* картировать не удалось). Результат анализа GO выявил обогащение синтенных блоков генами, ассоциированными с функционированием иммунной системы, регуляцией транспорта нейротрансмиттеров, синаптической пластичностью и поведением самцов во время брачного периода. Полученные результаты показывают, что серия из двух вложенных инверсий, возникшая впервые у *An. messeae*, могла способствовать миграции этого вида или их общего предка с *An. maculipennis* из европейской части континента в Азию через Уральские горы, что предполагало изменение регуляции систем противодействия паразитам, а также требовала дополнительных механизмов презиготической изоляции от распространенного в восточной части Евразии *An. beklemishevi*. Исследование выполнено при поддержке Программы развития Томского государственного университета (Приоритет-2030).



Гомологичности Н. И. Вавилова и Э. Д. Копа

В. В. Суслов¹

¹ Новосибирск, Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия

valya@bionet.nsc.ru

HOLOGOUS SERIES AS N. I. VAVILOV AND E. D. COPE

Закон гомологических рядов (ЗГР) Н. И. Вавилова не опровергнут, но и не акцептирован синтетической (СТЭ) и эпигенетической (ЭТЭ) теориями эволюции. Общее основание нужно для сходства: и для наблюдения, и для формирования его адаптивной или внеотборной (нейтрали, дрейф) эволюцией. Основания для аналогии и гомологии предзаданы в их определениях: для этих сходств, с которыми работают СТЭ и ЭТЭ, можно абстрагироваться от *здесь и сейчас* взаимодействий признака со средой, пусть и в форме усреднения сумм таких взаимодействий. У гомологического — по принципу — сходства в определении нет основания для сходства: основание надо найти по *здесь и сейчас* взаимодействиям — адаптивные ГР Вавилова [1]; или показать: его там нет, основание вне отбора — внеотборные ГР Копа, их отбор поддерживает или ничего не может с ними сделать. ГР Копа в обоих случаях — ограничение на отбор, что позволяет работать с ГР ≈ как с ана- и гомологией — абстрагируясь от среды [2]. По Вавилову комбинаторный комплекс из признаков на фоне факторов среды складывается, работает и отбирается *здесь и сейчас* — пока выполняется функция, далее признаки, а в пределе гены могут входить в другие комплексы, функционировать по одному, менять функцию. Адаптивный переход меж обоими ГР дан у Вавилова радикалом [1].

ЗГР — обобщение с признаков фитоиммунитета на все наследуемые признаки [1]. Решая проблему адаптации к неспецифичному возбудителю, чья вирулентность перекроет изменчивость и вида-хозяина (ВХ), и рода, включающего ВХ, Вавилов показал (1919) бесперспективность отбора с высокой изменчивостью ВХ (по СТЭ) и с общей устойчивостью ВХ (автономия от среды ЭТЭ). Выход — *здесь и сейчас* адаптации: но не к возбудителю — смена функции — а к станциям ареала, чей комбинаторный комплекс факторов среды как-либо ослабит, но не уничтожит жизнеспособность, вирулентность, контактиозность возбудителя. Любое сочетание вкладов ослабления этих трёх и есть основание для локального гомологического сходства разных популяций из разных стаций-рефугий. Затем обмены локально устойчивых популяций ВХ выявят гены, дающие устойчивость в нескольких станциях, запустив и реколонизацию ареала ВХ, и выполнение ЗГР. Так же — смена функций, ГР, реколонизация — идёт адаптация животных к городу (урбанизация) [3]. ЗГР Вавилова, т. о. не требует сходства векторов отбора, а лишь разнообразия сред, признаков и отсутствия меж признаками синдромов — комплексов кофункционирования монофункциональных и/или автономных для любой среды (\equiv абстрагированию от неё) и/или трудноразложимых отбором (\equiv ограничению на него). Синдром — терминальная фаза эволюции по ЗГР: так сросшиеся шеи тушканчиков *Cardiocranius* и гладких китов *Balaenidae* не попадают под ана- или гомологию. Оба — адаптация к нагрузкам на шею (общее основание для ГР), но характер этих нагрузок и отбор разный. Т. о. ЗГР и СТЭ с ЭТЭ описывают разные ситуации, не давая единой теории в какой-либо форме. "Синтез" — выявление как границ применимости ЗГР и СТЭ с ЭТЭ, так и зон перекрывания их применимостей при переходах от ЗГР Вавилова к ГР Копа.

[1] Вавилов Н. И. Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости. — Л., 1987. — 256 с.

[2] Cope E. D. The Primary Factors of Organic Evolution. — Chicago, 1904. — 475 p.

[3] Фридман В. С., Суслов В. В. Города как «арены» микроэволюционных процессов. — М., 2022. — 360 с.



Цитогенетическое описание хромосомы, ограниченной зародышевой линией, зебровой амадины

О.Д. Такки¹, Ю.С. Жукова¹, С.А. Галкина¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет
st071188@student.spbu.ru

Зебровая амадина (*Taeniopygia guttata*) — это небольшая певчая птица из семейства вьюрковых ткачиков (*Passeriformes, Estrildidae*). Она примечательна не только тем, что является модельным объектом в нейробиологии, эндокринологии и эволюционной биологии, но ещё и тем, что у зебровой амадины впервые была открыта 'экстра хромосома GRC (germline restricted chromosome) [1]. Эта хромосома присутствует только в клетках зародышевой линии, из соматических клеток она элиминируется на ранних этапах эмбриогенеза. Как правило, GRC наследуется только по женской линии, поскольку эта хромосома выбрасывается из мужских половых клеток во время сперматогенеза. Дальнейшие исследования показали, что, по всей видимости, дополнительная к основному набору хромосома GRC есть в сперматоцитах и ооцитах у всех воробьинообразных [2]. Однако наличие хорошо структурированных баз геномных (в т. ч. наличие секвенированного генома клеток зародышевой линии [3]), транскриптомных и цитогенетических данных, обуславливают эффективно использовать зебровую амадину в качестве хорошо разработанного модельного объекта для изучения процесса наследования и элиминации GRC.

Описание GRC зебровой амадины на стадии пахитены было выполнено неоднократно [1,2], но составленная цитогенетическая карта содержит только предварительную информацию о положении центромеры и картировании последовательности клона 27L4, полученного из геномной библиотеки зебровой амадины. В нашей работе мы охарактеризовали морфологию GRC на стадии ламповых щеток, провели высокоразрешающее картирование с теломерными и центромерными сателлитами, а также с биоинформатическими предсказанными GRC-специфичными последовательностями. Составленная нами цитогенетическая карта структурирует имеющуюся информацию о последовательностях GRC, а также является физической основой для составления полной расшифрованной последовательности GRC. Кроме того, выявленные нами морфологические особенности могут объяснять механизм материнской передачи GRC.

1. Pigozzi M. I., Solari A. J. (1998). Germ cell restriction and regular transmission of an accessory chromosome that mimics a sex body in the zebra finch, *Taeniopygia guttata* // *Chromosome Res.* 1998 Feb;6(2):105-13. doi: 10.1023/a:1009234912307.

2. Torgasheva A. A., Malinovskaya L. P., Zadesenets K. S., Karamysheva T. V., Kizilova E. A., Akberdina E. A., Pristyazhnyuk I. E., S der E. P., Volodkina V. A., Saifitdinova A. F., Galkina S. A., Larkin D. M., Rubtsov N. B., Borodin P. M. Germline-restricted chromosome (GRC) is widespread among songbirds. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2019; 116(24):11845-11850. DOI 10.1073/pnas.1817373116.

3. Kinsella C. M., Ruiz-Ruano F. J., Dion-Côté A. M., Charles A. J., Gossmann T. I., Cabrero J., et al. Programmed DNA elimination of germline development genes in songbirds // *Nature Communications* volume 10, Article number: 5468 (2019).

Работа поддержана грантом РНФ 24-24-00518.



Метаболомные паттерны естественного отбора в популяции человека

Я.Р. Тимашева¹

¹ Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН

ianina_t@mail.ru

Естественный отбор оказывает влияние на формирование многофакторных признаков, ограничивая возникновение крайних проявлений (стабилизирующий отбор) и частоту встречаемости связанных с ними аллельных вариантов генов. Влияние естественного отбора на популяцию человека можно определить путем анализа взаимосвязи между величинами эффекта полиморфных вариантов генов, полученными при проведении полногеномных ассоциативных исследований (GWAS), и частотами соответствующих аллелей. Данный подход успешно применяется в отношении комплексных фенотипов, таких, как антропометрические характеристики и распространенные многофакторные заболевания, в то время как влияние отбора на молекулярные механизмы, лежащие в основе формирования этих фенотипов, остается малоизученным.

Нами проведен анализ действия естественного отбора на генетические варианты, связанные с состоянием метаболома, который представляет собой важную характеристику гомеостаза организма, а также при помощи метода Менделевской рандомизации выполнена оценка причинно-следственной связи между метаболомными данными и 51 клиническим фенотипом, включая кардиометаболические, антропометрические, гормональные и когнитивные признаки, с использованием данных GWAS для 135 метаболитов из классов аминокислот, биогенных аминов, фосфатидилхолинов, ацилкарнитинов, сфингомиелинов, лизофосфатидилхолинов и гексоз), выполненных в выборках величиной от 9363 до 86507 человек.

В результате проведенного исследования обнаружено значимое ($P < 5.15 \times 10^{-5}$) влияние стабилизирующего отбора в отношении 15 изученных метаболитов. При помощи Менделевской рандомизации выявлены метаболиты, оказывающие значительный эффект на развитие кардиометаболических фенотипов, в том числе ожирения, сахарного диабета 2 типа (СД2), ишемической болезни сердца (ИБС) и дислипидемии. Продемонстрировано, что метаболиты, находящиеся под более сильным действием стабилизирующего отбора, оказывают большее влияние на ключевые кардиометаболические характеристики, при этом некоторые демонстрируют плейотропные эффекты: глутамат оказывает негативное влияние на липопротеины низкой плотности ($\beta = -0.39$, $P = 1.04 \times 10^{-15}$) и ИБС ($\beta = -0.2$, $P = 2.35 \times 10^{-5}$), позволяя предположить, что поддержание здорового кардиометаболического профиля может быть важным направлением действия естественного отбора на метаболом. Обнаружены также свидетельства как дизруптивного, так и движущего отбора в отношении ряда липидных метаболитов, что может указывать на продолжающуюся эволюционную адаптацию у людей. Полученные результаты показывают, что уровни метаболитов человека находятся под действием естественного отбора и могут оказывать эффект опосредованно путем влияния на состояние сердечно-сосудистой системы и обменные процессы.

Исследование частично поддержано Мегагрантом № 075-15-2021-595.



Расположение цветков на побегах, гомологичное и аналогичное соцветию

В.Е. Харченко¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Луганский государственный аграрный университет имени К.Е. Ворошилова», г. Луганск

viktoriaharchenko@rambler.ru

Продуктивность растений зависит от расположения цветков на них. Несмотря на многочисленные работы, посвящённые генетической регуляции соцветий, по-прежнему остаётся много невыясненных вопросов. Отчасти это связано с разницей, существующей между субъективным восприятием соцветий и их гомологией. Согласно критерию конъюнкции (Patterson 1982), при гомологизации анализируемых структур целесообразно выяснить, из одной или из разных трансформационных серий они сформировались. Это может быть установлено на основании сопоставления фенотипической изменчивости близкородственных таксонов. Функции ряда генов, действующих на развитие цветков и соцветий, были установлены на основании анализа эффектов мутаций у модельных растений *Antirrhinum majus* и *Arabidopsis thaliana* (Coen, Meyerowitz 1991). Так как под влиянием гомеозисных макромутаций *HOX* генов у *Drosophila melanogaster* меняется позиционная среда, и это приводит к формированию негомологичных структур (Lawrence 1992), формирование терминального цветка с симметрией, отличающейся от боковых цветков, Carpenter и Coen (1990), расценили как инновацию, возникающую у *Arabidopsis thaliana* с мутацией гена *TERMINAL FLOWER (TFL)*. Это привело к распространению конструкционного правила, согласно которому зигоморфные цветки должны быть собраны в неопределённые соцветия, а актиноморфные в определённые. Почему? Во-первых, Carpenter и Coen (1990) полагали, что все боковые цветки представляют собой редуцированные боковые побеги, а терминальный цветок является инновационной структурой, ограничивающей рост оси соцветия, возникающей под влиянием мутации гена *TFL*. Поэтому терминальный и боковой цветки они относили к обособленным трансформационным сериям. Однако формирование одиночных терминальных цветков у *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae) линии *Ler* свидетельствует о том, что ключевое значение имеет не положение цветка на побеге, а выяснение его принадлежности к определённой трансформационной серии (Харченко 2021). Это даёт повод для пересмотра наших представлений о расположении цветков на растениях с учётом его трансформационных серий. На основании сопоставлений структуры репродуктивных побегов у викарирующих видов *Anemone (Ranunculaceae)* был уточнён генезис цветков. В частности, скопление цветков у *Anemone narcissiflora*, *Anemone baicalensis* и *A. biflora* представляет собой структуры, аналогичные соцветию «зонтик», так как принадлежат побегам разного уровня ветвления, то есть разным трансформационным сериям.



Изменчивость гена *cyt b* у восточноазиатской мыши *Apodemus peninsulae* Thomas, 1906 — природного носителя хантавируса AMRV на юге Приморского края

В.Д. Цуканова¹, И.Н. Шереметьева¹

¹ ФНЦ Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, пр-т 100-летия Владивостока 159, 690022,
г. Владивосток, Россия
viktoriatsu@gmail.com

Эволюция инфекционных агентов и их природных носителей идет параллельно, и можно предположить согласованность картин между распространением их филогенетических линий (Подгорная, Галактионов 2009). В России геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС), вызываемая разными видами хантавирусов, занимает одно из первых мест среди природно-очаговых заболеваний (Савицкая и др. 2021). На Дальнем Востоке протекание ГЛПС отличается значительной тяжестью, и установлено, что доля хантавируса AMRV в структуре заболеваемости Приморского края составляла 56% (Слонова др. 2006). Единственным его природным резервуаром является восточноазиатская мышь *Apodemus peninsulae* — широкоареальный вид, распространенный в России на Дальнем Востоке и Сибири, в Китае, Корее и в Японии на о. Хоккайдо (Громов, Ербаева 1995; Костенко 2000; Yashina et al. 2001).

В проведенных ранее молекулярно-генетических исследованиях (Serizawa et al. 2002; Sakka et al. 2010; Шереметьева и др. 2019) было показано, что все особи *A. peninsulae* севера ареала принадлежат к двум филогенетическим линиям «Korea» и «Amur». В Приморском крае обнаружена только «Amur», но проанализированы малочисленные выборки. Для хантавируса AMRV показано, что на Дальнем Востоке России циркулируют три линии, четвертая встречается только в Южной Корее (Яшина 2012; Яшина и др. 2019). Полученные на сегодняшний день данные по филогеографии *A. peninsulae* не согласуются с результатами неоднородности исследованных штаммов хантавируса AMRV. Целью настоящей работы был анализ изменчивости участка гена цитохрома *b* *A. peninsulae* на юге Приморского края для поиска возможных дополнительных филогенетических линий. В работе проанализировано 24 образца тканей восточноазиатской мыши из Приморского края (Национальный парк «Земля леопарда» (n = 13) и «Уссурийский заповедник» (n = 11)). Кроме этого, в работе использованы 35 гомологичных последовательностей гена цитохрома *b* мтДНК длиной 744 п. н., относящихся ко всем известным на сегодняшний день филогенетическим линиям и хранящихся в базе данных GenBank/NCBI: Китай (n = 9), Южная Корея (n = 5), Монголия (n = 2), о. Хоккайдо (n = 2), Россия (n = 17). В результате анализа изменчивости участка гена цитохрома *b* исследуемых выборок *A. peninsulae* обнаружены, помимо филогенетической линии «Amur», две новые — «Korea» и «Manchuria», ранее не фиксировавшихся в Приморье. В популяции мышей «Земля леопарда» встречаются линии «Amur» и «Korea», в «Уссурийском заповеднике» — все три. Найдено 19 новых для вида гаплотипов. Показано высокое гаплотипическое и нуклеотидное разнообразие: «Уссурийский заповедник» (0.964 ± 0.051 и 0.01153 ± 0.00309 , соответственно), «Земля леопарда» ($1,000 \pm 0,030$ и $0,0125 \pm 0,001$, соответственно). Это говорит о том, что представление о генетической структуре *A. peninsulae* на юге Дальнего Востока на сегодняшний день является неполным и требует дальнейшего исследования.

Используя полученные результаты, предположена корреляция между филогенетическими линиями *A. peninsulae* и хантавируса AMRV. Можно сопоставить имеющие широкое распространение на Дальнем Востоке России линии «Amur» у хозяина и AMRV-2 у хантавируса (выделена на филогенетическом древе Яшиной (Яшина 2012)). Линия мыши «Korea», вероятно, будет соответствовать линии вируса, гаплотипы которого встречаются в Корее, но пока не обнаружены в России. Линия AMRV-1 хантавируса, встречающаяся на севере Китая и в Приморье, вероятно, коррелирует с линией мыши «Manchuria», обнаруженной в «Уссурийском заповеднике» и на северо-востоке Китая. При поиске еще одной линии стоит обратить внимание на популяцию *A. peninsulae* в нижнем течении реки Амур, которая может быть сопоставима с найденной только там линией хантавируса AMRV-3.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-24-00158, <https://rscf.ru/project/24-24-00158>.

Симпозиум 8: Структурная и функциональная протеомика
Symposium 8: Structural and Functional Proteomics



Анализ секретируемых пептидов мягкой пшеницы *Triticum aestivum* в условиях засухи

Р.А. Азаркина¹, А.С. Мамаева¹, А.С. Макеева¹, С.И. Ковальчук¹, И.А. Фесенко¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук (ФГБНУ ИБХ РАН), Москва

khazigaleeva.regina@gmail.com

Пептиды выполняют важную роль в качестве медиаторов процессов роста и развития растений, а также регулируют ответ на стрессовые факторы [1, 2]. При этом большинство известных биоактивных пептидов секретируются в апопласт или могут экспортироваться в культуральную среду растений. Идентификация большинства секретируемых пептидов основана только на биоинформатический анализе. Однако биохимический анализ позволяет идентифицировать зрелые структуры пептидов. Особый интерес представляет изучение пептидов, образованных из белков-предшественников, которые могут секретироваться из клеток растений в условиях стресса. Для идентификации регуляторных пептидов, регулирующих ответ на стрессовые воздействия, мы провели анализ пептидома культуральной жидкости растений мягкой пшеницы сорта Ленинградская 6 (*Triticum aestivum* L), в условиях недостатка влаги. Растения пшеницы выращивали на гидропонной установке в среде Хогланда, для имитации недостатка влаги в раствор добавляли 20% PEG и инкубировали в течении 8 дней. Пептиды были выделены с помощью твердофазной экстракции на DSC-18 с последующим восстановлением дисульфидных связей. Используя масс-спектрометрический анализ, мы проанализировали пулы пептидов, выделенных из культуральной жидкости пшеницы в трех биологических повторах. С помощью такого подхода мы идентифицировали около тысячи уникальных пептидов, являющихся фрагментами 500 белков, большинство из которых — ферменты первичного метаболизма и фотосинтеза. Недостаток влаги приводит к изменению секретируемых пептидных пулов у пшеницы, что может играть существенную роль в адаптации растений к данному типу стресса. Анализ пептидома позволил выделить список перспективных кандидатов, которые будут использованы для дальнейших экспериментов.

[1] Peptides take center stage in plant signaling. J Exp Bot. 2015 Aug; 66(17): 5135–5138. Published online 2015 Aug 5.

[2] Identification of a biologically active, small, secreted peptide in Arabidopsis by *in silico* gene screening, followed by LC–MS-based structure analysis. BMC Plant Biol. 2019 Jan 7;19(1):9.

Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (Грант № 23-66-10013).



Анализ белков с высокой осмотической активностью из сыворотки крови трески атлантической *Gadus morhua* в терминах генной онтологии

З. М. Базарова¹, И. Ю. Торопыгин^{1, 2}, А. М. Андреева¹

¹ Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина, Ярославская обл., п. Борок

² Институт Биомедицинской химии имени В. Н. Ореховича, Москва

zinaidabazarova1999@gmail.com

В крови значительной части костистых рыб (Teleostei) в ходе третьей полногеномной дупликации (ПГД3) были «потеряны» сывороточные альбумины [5]. Не обнаружены они и в плазме атлантической трески *Gadus morhua* [4]. Ранее, в сыворотке трески нами были идентифицированы в анодной области диск-электрофореграммы белки с высокой осмотической активностью (ОАБ), среди которых доминировали гемопексины, ингибиторы протеиназы и аполипопротеин А-1 (в составе ЛПВП) [3]. Предположительно, эти ОАБ взяли на себя функции сывороточного альбумина [3]. Цель работы — анализ в терминах генной онтологии белков с высокой осмотической активностью из сыворотки крови трески атлантической *Gadus morhua* и анализа их участия в осморегуляции трески в свете «безальбуминовой» модели капиллярного обмена у Teleostei. Белки разделяли в диск- и 2D-электрофорезе (5–40% PAGE, SDS-PAGE). Границы анодной области с находящимися в ней ОАБ определяли в диск-Е по трансферрину [3]. В SDS-E были отобраны 20 экспрессированных белковых пятен для идентификации с помощью MALDI-TOF MS и MS/MS. Анализ кандидатов в терминах генной онтологии (ГО) проводили «вручную» с помощью UNIPROTКБ; графику выполняли в Excel 2016. Большая часть ОАБ трески описана в составе плазмы других видов Teleostei и, за исключением коактозина и стонустоксина, имела ортологов среди белков плазмы человека [4; 1]. Отношение внеклеточных и внутриклеточных белков среди ОАБ составило 14:6. ОАБ трески задействованы в биологических процессах кровотока, протеолиза и развития, регуляции обменных процессов. Молекулярные функции охватывают транспорт, гидролазную активность, ингибирование протеиназной активности. Доминирующие ОАБ — гемопексины, аполипопротеины и ингибиторы протеиназы — принадлежат суперсемействам Hx, ApoA1/A4/E, ApoAII, Spi, Cy; их основные функции связаны с транспортом и защитой (от патогенов).

«Безальбуминовая» гипотеза [2] рассматривает множественные ОАБ трески, как аналоги осмотически активных сывороточных альбуминов Mammalia. Согласно гипотезе, наряду с основными функциями транспорта и защиты, ОАБ способны выполнять и осмотическую функцию. Их нахождение в анодной области диск-электрофореграммы предполагает высокий отрицательный заряд, а значит, высокую эффективность в связывании Na⁺ и воды, что указывает на более высокую осмотическую активность ОАБ в сравнении с другими белками плазмы. Таким образом, вместо сывороточного альбумина, который проявляет максимально высокую осмотическую активность в крови Mammalia, у трески подобную активность способны проявлять множественные белки с высоким электроотрицательным потенциалом.

- [1] Anderson N. L., Polanski M., Pieper R. et al. 2004. The human plasma proteome: a nonredundant list developed by combination of four separate sources // Mol. Cell. Proteomics. V. 3. P. 311. <https://doi.org/10.1074/mcp.M300127-MCP200>
- [2] Andreeva A. M. 2020. Structural Organization of Plasma Proteins as a Factor of Capillary Filtration in Pisces // Inland Water Biology. V. 13. № 4. P. 664. <https://doi.org/10.1134/S1995082920060036>
- [3] Andreeva A. M., Bazarova Z. M., Toropygin I. Yu., et al. 2023. Serum Osmotically Active Proteins in the Atlantic Cod *Gadus morhua* // Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology. Vol. 59. P. 325–336. Doi: 10.31857/S004445292302002X.
- [4] Bohne-Kjersem A., Skadsheim A., et al. 2009. Candidate biomarker discovery in plasma of juvenile cod (*Gadus morhua*) exposed to crude North Sea oil, alkyl phenols and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). // Dec; 68(5):268–77. doi:10.1016/j.marevres.2009.06.016.
- [5] Noel E. S., Reis M., Arai Z., Ober E. A. 2010. Analysis of the Albumin/ α -Fetoprotein/Afamin/Group specific component gene family in the context of zebrafish liver differentiation // Gene Expression Patterns. V. 10(6). P. 237. <https://doi.org/10.1016/j.gep.2010.05.002>.



Протеомный подход в изучении роли рост-стимулирующих ризобактерий в устойчивости растений томата к засухе

А. К. Гурина¹, Н. В. Фролова², Д. П. Горбач¹, Е. М. Лукашева¹, А. В. Кузнецова¹, Ю. С. Шумилина²,
К. Алхаже², Т. Е. Билова^{1, 2}, А. А. Орлова², С. А. Силинская², М. А. Черевацкая¹, Т. С. Леонова²,
А. И. Шапошников³, Д. С. Сырова³, А. А. Фролов², А. А. Белимов³

¹ Санкт-Петербургский Государственный Университет, Университетская наб, 7/9, Санкт-Петербург, Россия

² Институт Физиологии Растений им. К. А. Тимирязева, РАН, Ботаническая ул. 35, Москва, Россия

³ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, ш. Подбельского, 3, Пушкин, Россия

st080515@student.spbu.ru

Практическое использование симбиоза растений с рост-стимулирующими микроорганизмами (в частности, ризобактериями из группы PGPR) является перспективным биотехнологическим подходом в борьбе с негативными последствиями засухи на урожай. Предполагается, что в основе наблюдаемого положительного эффекта ризобактерий на рост и биомассу растений в условиях дефицита влаги лежит их способность к удалению предшественника в биосинтезе этилена — 1-амино-1-циклопропан-карбоксилата (АЦК), — что обеспечивается естественной экспрессией бактериального гена фермента АЦК-деаминазы. Ранее показано, что среди исследуемых бактерий инокуляция именно штаммом *P. brassicearum* Am3, но не T8-1, являющимся мутантом по гену фермента, способна снижать негативные эффекты засухи на биомассу растений. Однако, конкретные сигнальные и метаболические пути, задействованные в снижении эффекта этилена на организм растения, остаются неизвестными. С этой целью исследовалась динамика протеома побегов томата в условиях засухи и присутствия или отсутствия инокулянтов с помощью bottom-up подхода. После выделения тотальной фракции белка полученные протеолитические пептиды были проанализированы с помощью нанопоточной обратнофазовой хроматографии, совмещенной в режиме он-лайн с Orbitrap Fusion Tribrid масс-спектрометром. С помощью биоинформатических платформ проведен статистический анализ и выявлены основные функциональные классы дифференциально экспрессирующихся белков, потенциально вовлеченных в исследуемые явления.

Работа поддержана проектами РНФ (19-16-00097) и Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2922-320 от 20.04.2022).

Симпозиум 9: **Генетика человека**
Symposium 9: **Human Genetics**



Genetic variations of *lncRNA-H19* and *miR-33* in association with fetal growth restriction

D. M. Alset¹, M. A. Eid¹, E. V. Butenko¹, T. P. Shkurat¹

¹ Southern Federal University

damdoum1995@gmail.com

Background: Fetal growth restriction (FGR) is diagnosed during pregnancy when fetal body weight is less than 10th percentile of normal weight detected for gestational age and sex. This syndrome was linked to many cases of fetal and neonatal mortality beside its short-term and long-term complications. Long non coding RNAs (lncRNAs) and microRNAs were not widely studied in FGR cases. The presented study aimed to investigate the association of two genetic variations in non-coding RNAs: *lnc-RNA-H19* rs217727 and *miR-33a* rs9620000 with FGR risk.

Materials and methods. 81 pregnant women were included and classified into two groups: FGR-diagnosed pregnancies (n = 34) and control group (n = 47) with no history of any pregnancy complications. Genomic DNA was extracted from blood samples using NK-sorbent kit (Lytech. Co. Ltd. Russia). Oligonucleotide primers were designed using NCBI-primer designing tool (primer-blast) and genotyping was conducted using allele specific PCR (AS-PCR). Chi-square test (χ^2) was used to assess the association with P-value ≤ 0.05 indicates significant association.

Results. According to our data, *lnc-RNA-H19* rs217727 did not show significant association with FGR risk ($p = 0.49$; $\chi^2 = 1.42$). On the other hand, results suggest that *miR-33a* rs9620000 is significantly associated with FGR ($p = 0.031$; $\chi^2 = 4.68$). Mutant allele of *miR-33a* rs9620000 can be considered as FGR candidate risk factor (OR = 2.5; 95% CI = 1.1–8.79).

Conclusion. Our study excludes the association of *lnc-RNA-H19* rs217727 genetic variation with FGR pathology. However, this is the first study to suggest *miR-33a* rs9620000 as FGR risk factor. Results will contribute to the efforts of finding maternal prenatal genetic markers for FGR syndrome. Sample size can be considered as a limitation of the presented research, so future trials with larger sample size are recommended.

This study was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation No. FENW-2023-0018.



Association of *GSTP1* and *GPX4* genetic variants with COVID-19 severity

M.A. Eid¹, D.M. Alset¹, T.P. Shkurat¹

¹ Southern Federal University

moez1995.mae@gmail.com

Background and aims: The novel coronavirus, named as the severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2, 2019-nCoV), caused an atypical respiratory disease called Coronavirus disease 19 (COVID-19). As of 28 January 2024, about 774 million confirmed cases of COVID-19 globally were reported to WHO, including more than 7 million deaths. Oxidative stress — imbalance between the generation of reactive oxygen species (ROS) and endogenous mechanisms of detoxification, such as antioxidant enzymes. Several risk factors of COVID-19 severe outcome are associated with the development of oxidative stress.

The aim of the current study was to investigate the association and SNP-SNP interaction of glutathione peroxidase 4 (*GPX4*) rs713041 (718 C > T), and glutathione S-transferase pi-1 (*GSTP1*) rs1695 (A > G) with the severity of COVID-19.

Materials and methods: Study subjects were divided into two groups based on the severity of their symptoms: (100 mild and 69 severe cases). Allele-specific real time polymerase chain reaction (RT-PCR) was used for genotyping, and multifactor dimensionality reduction (MDR) analysis was performed to investigate the SNP-SNP interaction models.

Results: A significant association of *GPX4* rs713041 with the severity of COVID-19 was noted ($p=0.035$), while *GSTP-1* rs1695 showed no significant association. Most of *GPX4* 718TT carriers had a severe course of COVID-19 (OR = 3.50; 95% CI [1.18–10.35]). The resulted two-locus SNP-SNP interaction model was statistically significant ($p=0.04$, OR = 2.006; 95% CI [1.005–4.002]).

Conclusion: To our knowledge, this is the first study to investigate the association of *GSTP1* rs1695 and *GPX4* rs713041 with the severity of COVID-19 symptoms. The obtained results may serve as a novel potential factor of COVID-19 prognosis.

This study was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation № FENW-2023–0018.



Изучение ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов, локализованных в некодирующих регионах перед генами интерлейкинов, с бесплодием различного генеза

Е. В. Бутенко¹, Я. В. Баранова¹, О. В. Лянгасова¹, С. В. Ломтева²

¹ ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет», Ростов-на-Дону 2000 «Центр репродукции и ЭКО», Ростов-на-Дону
evbutenko@sfnu.ru

Более 90% известных на сегодняшний день однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), ассоциированных с заболеваниями, в геноме человека локализованы в межгенных областях, 5' и 3' нетранслируемой области, промоторных участках и в интронах. Около 30% из этих SNP расположены в межгенных участках. Установление их функционального значения будет способствовать развитию персонализированных подходов в медицине, в том числе при изучении этиологии репродуктивных нарушений человека. В связи с этим в работе была поставлена цель: провести анализ ассоциации полиморфных аллелей – 174G/C гена *IL6* (rs1800795), – 819T/C (rs1800871), – 592A/C (rs1800872) и – 1082A/G (rs1800896) гена *IL10*, а также структуры неравновесия по сцеплению и гаплотипов с трубным фактором бесплодия и ановуляцией.

Сбор клинического материала проводили на базе Центра репродукции и ЭКО г. Ростова-на-Дону. Контрольную группу составили 69 женщин с диагнозом мужской фактор бесплодия (код МКБ 97.4), в исследуемую группу вошли 28 женщин с диагнозом трубный фактор бесплодия (код МКБ 97.1) и 25 женщин с ановуляцией (код МКБ 97.0). В контрольную и исследуемую группы были включены женщины без сопутствующих патологий в анамнезе. Материалом для молекулярно-генетических исследований служила венозная кровь. Генотипирование проводили методом ПЦР с использованием коммерческих наборов фирмы Литех, Россия. Частоты генотипов и аллелей, соответствие равновесию Харди-Вайнберга, отношение шансов и анализ неравновесия по сцеплению были проведены с использованием критерия хи-квадрат и коэффициентов D и D' в программе «SNPstats» (<https://www.snpstats.net/start.htm>).

Частоты распределения генотипов и аллелей по полиморфным вариантам всех изученных генов соответствовали распределению Харди-Вайнберга как в контрольной, так и в исследуемой группах. Статистически значимых отличий в распределении генотипов и аллелей по полиморфным локусам – 174G/C гена *IL6*, – 819T/C, и – 1082A/G гена *IL10* обнаружено не было. Гетерозиготное носительство SNP – 592A/C гена *IL10* повышало риск ановуляции (ОШ 3,3; ДИ 1,27–8,36; $p = 0,013$). Анализ неравновесия по сцеплению Для SNP – 819T/C, – 592A/C и – 1082A/G гена *IL10* выявил тесное сцепление исследованных локусов ($D' = 0,79$). Наиболее часто встречался гаплотип С (– 819T/C) G (– 1082A/G) С (– 592A/C) – 35%. Гаплотип Т (– 819T/C) G (– 1082A/G) А (– 592A/C) повышает риск ановуляции (ОШ 3,96; ДИ 1,33–11,84; $p = 0,016$) Ассоциации гаплотипов с наличием трубным фактором выявлено не было.

Ограничением данного исследования является малый объем исследуемой выборки.
Выявленные тенденции будут подтверждены в дальнейших исследованиях.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности № FENW-2023–0018.



Аномалии метилома при ранней эмбриональной гибели

С.А. Васильев¹, В.В. Деменева¹, О.Ю. Васильева¹, Д.И. Жигалина¹, Е.Н. Толмачева¹, Д.Г. Шевцов¹,
И.В. Лушников¹, Е.А. Саженова¹, Т.В. Никитина¹, И.Н. Лебедев¹

¹ НИИ медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, г. Томск
stanislav.vasilyev@medgenetics.ru

Метилирование ДНК — один из ключевых механизмов, ответственных за реализацию программы индивидуального развития организма. Цель настоящего исследования — выявление потенциальной роли множественных аномалий метилома экстраэмбриональных тканей в гибели эмбрионов человека на ранних стадиях развития.

Глобальный уровень метилирования генома был оценен с помощью анализа профиля метилирования ретротранспозона LINE-1 посредством таргетного бисульфитного массового параллельного секвенирования в ворсинах хориона 173 спонтанных абортусов с нормальным кариотипом по сравнению с 39 медицинскими абортусами, а также 21 пары спонтанных абортусов из одних и тех же семей. Более 1 млн CpG-сайтов проанализировано в ворсинах хориона 8 спонтанных абортусов с нормальным кариотипом по сравнению с 7 медицинскими абортусами с помощью метода массового параллельного секвенирования ограниченного набора локусов (RRBS). Профиль метилирования отдельных генов был определен в группе спонтанных абортусов с нормальным кариотипом ($n = 33$) с помощью таргетного бисульфитного массового параллельного секвенирования.

В группе спонтанных абортусов наблюдался повышенный уровень метилирования LINE-1, причем этот эффект более выражен для более древних подсемейств LINE-1 ($p < 0.05$). При этом 34 спонтанных абортуса (19,7%) имели уровень метилирования выше, а 4 спонтанных абортуса (2,3%) — ниже, чем в группе медицинских абортусов. Это указывает на широкую распространенность аномалий метилирования ретротранспозона LINE-1 в ворсинах хориона спонтанных абортусов. Также у спонтанных абортусов с нормальным кариотипом с помощью RRBS выявлены масштабные аномалии метилирования генов, среди которых были обогащены гены белков развития. В расширенной выборке спонтанных абортусов с нормальным кариотипом и повышенным уровнем метилирования LINE-1 обнаружено значимое гиперметилирование некоторых из выявленных дифференциально-метилированных генов, включая гены *ADORA2B*, *PRDM1* и *PSG2* ($p < 0,05$), участвующие в регуляции дифференцировки клеток трофобласта и ремоделировании спиральных артерий. Наконец, обнаружена значимая корреляция уровня метилирования LINE-1 в ворсинах хориона 21 пары спонтанных абортусов от одних родителей ($R = 0.71$, $p = 0.0003$). Таким образом, в экстраэмбриональных тканях спонтанных абортусов часто имеются масштабные аномалии метилирования генома, которые могут быть самостоятельным фактором, ассоциированным с ранней гибелью эмбрионов человека.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФ № 23-15-00341.



Анализ уровня метилирования промоторного участка гена *CADM1* у женщин с клинически значимой концентрацией ВПЧ

В.В. Вольчик¹, Е.В. Машкина¹

¹ Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону

volchik@sfedu.ru

Рак шейки матки занимает 4-е место по частоте возникновения среди женщин в мире (Sung et al., 2021). Развитие рака шейки матки связано с персистирующей ВПЧ-инфекцией (Mersakova et al., 2018). Потенциальным фактором, который способствует сохранению и развитию ВПЧ-инфекции в клетках шейки матки, является изменение степени метилирования промоторов ряда генов супрессоров опухолей. Целью данной работы было проанализировать уровень метилирования промоторного участка гена *CADM1* у женщин с клинически значимой концентрацией ВПЧ-инфекции.

Материалом для исследования послужили образцы ДНК, выделенные из клеток цервикального эпителия женщин. В первую группу вошли 22 женщины с клинически значимой концентрацией ВПЧ. Контрольную группу составили 18 женщин, не инфицированных ВПЧ. В исследование были включены женщины старше 30 лет. Анализ метилирования ДНК осуществляли в два этапа: проводили бисульфитную обработку ДНК, а затем ставили метил-чувствительную ПЦР в реальном времени с использованием Taq-Man зондов. Ген бета-актина (*ACTB*) был выбран в качестве внутреннего эталона. Отношение между значениями Ct для *ACTB* и гена мишени использовали для количественной оценки уровня метилирования.

В контроле был обнаружен только один образец с метилированием промоторного участка гена *CADM1* (частота встречаемости 5,56%). Среди образцов ДНК женщин, инфицированных ВПЧ, частота обнаружения метилирования составила 22,73%. Уровень метилирования в образцах низкий (среднее значение 0,27). Уровень метилирования не зависит от уровня концентрации ВПЧ ($r = -0,18$; $p > 0,05$). Тем не менее корреляционный анализ показал, что уровень метилирования коррелирует с годом рождения женщин ($r = 0,99$; $p = 0,0004$).

Таким образом, выявлена связь между уровнем метилирования промотора гена *CADM1* при клинически значимой концентрации ВПЧ и возрастом инфицированных женщин.

1. Mersakova S. et al. Methylation of *CADM1* and *MAL* together with HPV status in cytological cervical specimens serves an important role in the progression of cervical intraepithelial neoplasia // *Oncology Letters*. — 2018. — V. 16. — № 6. — P. 7166–7174.
2. Sung H. et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries // *CA: a cancer journal for clinicians*. — 2021. — V. 71. — № 3. — P. 209–249.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности № FENW-2023–0018.



Роль эффекта основателя в распространенности патогенных вариантов с. 919-2A > G, с. 2027T > A и с. 1545T > G гена *SLC26A4*, ассоциированных с потерей слуха, в Республике Тыва (Южная Сибирь)

В.Ю. Данильченко^{1,2}, М.В. Зыцарь^{1,2}, О.Л. Посух^{1,2}

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия;

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия

mikhalskaya@bionet.nsc.ru

Одной из наиболее частых причин потери слуха во многих популяциях являются патогенные варианты гена *SLC26A4* (MIM 605646), кодирующего трансмембранный белок пендрин, которые приводят к рецессивно наследуемой изолированной потере слуха (DFNB4) или синдрому Пендредда (потеря слуха и дисфункция щитовидной железы). В настоящее время известно около 600 патогенных вариантов этого гена, распространенность которых характеризуется широкой этногеографической вариативностью. Ранее мы обнаружили, что доля *SLC26A4*-ассоциированной потери слуха у тувинских пациентов (Республика Тыва, Южная Сибирь) является одной из самых высоких в мире (28.2%) [1]. Подавляющее большинство выявленных мутантных *SLC26A4*-аллелей представлено тремя патогенными вариантами с. 919-2A > G, с. 2027T > A и с. 1545T > G (69.3%, 17.5% и 8.0%, соответственно), суммарная частота гетерозиготного носительства которых достигает 7.1%. Анализ мест рождения носителей данных вариантов показал их существенное накопление в ряде районов Республики Тыва. Эти наблюдения позволили предположить роль эффекта основателя в их распространенности на территории Тувы, что может быть подтверждено общностью гаплотипов для каждого из данных вариантов. Реконструкция гаплотипов проведена на основе данных генотипирования 5 STR- и 9 SNP-маркеров (фланкирующих ген *SLC26A4* и внутригенных) у неродственных пациентов, гомозиготных или компаунд-гетерозиготных по с. 919-2A > G, с. 2027T > A или с. 1545T > G, и здоровых индивидов из контрольной выборки. Высокая специфичность и сходство STR- и SNP-гаплотипов для с. 919-2A > G, с. 2027T > A или с. 1545T > G убедительно свидетельствуют о происхождении каждого из этих вариантов от единого предка, подтверждая роль эффекта основателя в их распространенности у коренного населения Республики Тыва. Полученные данные актуальны для создания регион-специфичной ДНК диагностики наследуемой потери слуха.

[1] *Danilchenko et al.*, 2021. doi: 10.3390/diagnostics11122378.

Работа поддержана грантом МОН РФ FSUS-2024-0018 и государственными бюджетными проектами FWNR-2022-0003 и FWNR-2022-0021.



Молекулярно-генетическая диагностика несовершенного остеогенеза в Томской области

И.Ж. Жалсанова¹, Е.А. Фонова¹, Н.Р. Валиахметов¹, С.Н. Государкина¹, А.А. Зарубин¹, Г.Н. Сеитова¹,
Л.И. Минайчева¹, Н.А. Скрябин¹

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук, Томск

irina.zhalsanova@medgenetics.ru

Несовершенный остеогенез представляет собой системное заболевание соединительной ткани. Симптоматика заболевания варьирует от 1–2 перелома за всю жизнь до явных скелетных аномалий и летального исхода. Наследование наиболее частых типов несовершенного остеогенеза (1–4 тип) является аутосомно-доминантным и вызвано патогенными вариантами в генах *COL1A1* и *COL1A2* (85–90%), в то время как более редкие формы демонстрируют аутосомно-рецессивное или X-сцепленное наследование. На сегодняшний момент описано более 20 генов, отвечающих за развитие несовершенного остеогенеза.

Материалы и методы: Образцы цельной крови 66 пробандов с направительным диагнозом несовершенный остеогенез получены из биоресурсной коллекции «Биобанк наследственной патологии». На первом этапе для поиска мутаций использовали таргетное массовое параллельное секвенирование, включающее гены *COL1A1* и *COL1A2*, на втором этапе проводилось секвенирование полного экзона. Для пробоподготовки использовалось целевое обогащение с помощью наборов Agilent Sure Select DNA Custom probe и All Exon v7 (Agilent, США). Оценка клинической значимости выявленных вариантов проводилась на основании российских рекомендаций для интерпретации данных, полученных методами NGS.

Результаты: Из 66 пробандов, направленных на поиск патогенных вариантов в генах *COL1A1* и *COL1A2*, молекулярно-генетический диагноз был подтвержден 32 пациентам (23 пациента с патогенными вариантами в гене *COL1A1* и 9 пациентов — *COL1A2*). Было выявлено 19 патогенных миссенс вариантов, 6 вариантов со сдвигом рамки считывания и 4 варианта в сайтах сплайсинга. Вторым этапом диагностики было полное секвенирование экзона. В результате анализа были выявлены варианты еще у 3 пациентов в генах *FKBP10* с.1256C>T в гомозиготном состоянии (НО 11 типа), *IFITM5* с.-14C>T (НО 5 типа), *SERPINF1* с.259_260insCGGCC в гомозиготном состоянии (НО 6 типа). Гомозиготный вариант *SERPINF1* с.259_260insCGGCC был выявлен впервые. Для поиска патогенных вариантов у пациентов без установленного молекулярно-генетического диагноза, после таргетного и экзонного секвенирования, необходимо проведение дополнительных исследований, в том числе полногеномного секвенирования.



Спектр выявленных мутаций у больных с несовершенным остеогенезом в Якутии методом NGS

Р. Н. Иванова¹, А. Л. Сухомясова¹, П. И. Голикова¹, Н. Р. Максимова²

¹ а) ФГАОУ ВО «СВФУ им. М.К. Аммосова», Якутск, Россия; б) ГАУ РС(Я) РБ№ 1-НЦМ, Якутск, Россия

² ФГАОУ ВО «СВФУ им. М.К. Аммосова», Якутск, Россия

ya.irm84@yandex.ru

Несовершенный остеогенез (НО) представляет собой генетически гетерогенную наследуемую дисплазию скелета, также известную как “болезнь хрупких костей”, и встречается примерно 1 случай на 10 000–20 000 живорожденных. В основном характеризуется прогрессирующей деформацией костей, повышенной восприимчивостью к переломам, низкой костной массой и задержкой роста. НО в 85% обусловлен доминантными вариантами генов коллагена I типа (*COL1A1*, *COL1A2*), проявляющимися фенотипическими особенностями от умеренного до летального. Проведен анализ эпидемиологических, клиничко-генеалогических и молекулярно-генетических особенностей несовершенного остеогенеза в Якутии. Использованы данные «Регистра наследственной и врожденной патологии Республики Саха (Якутия) Медико-генетического центра ГАУ РС(Я) РБ№ 1-НЦМ, генетические карты пациентов (n = 46), данные осмотра, результаты лабораторных и инструментальных исследований. По данным Республиканского генетического регистра наследственной и врожденной патологии в РС (Я) с НО зарегистрированы с клинически установленным диагнозом 46 пациента из 34 неродственных семей, из них 15 (34,9%) — дети. Национальный состав: якуты — 36 (78,2%), русские — 9 (19,5%), эвены — 1 (2,1%). По результатам молекулярно-генетического исследования методом NGS у 20 пробандов выявлены патогенные, вероятно патогенные варианты, варианты с неизвестным клиническим значением и структурные генетические варианты. У 5 пациентов выявлены ранее не описанные в литературе варианты (гетерозиготное носительство в экзоне 9 из 51 гена *COL1A1* p.Asn229MetfsTer36; гетерозиготное носительство в экзоне 48 из 52 гена *COL1A2* p.Gly1075Arg; гетерозиготное носительство в экзоне 1 из 51 гена *COL1A1* p. Glu33LysfsTer41; гетерозиготное носительство в интроне 15 из 51 гена *COL1A2* p.c. 738 + 1G > A; гомо- либо гемизиготном состоянии в экзоне 7 и 8 гена *SERPINF1* p.Arg303Ter). Таким образом, полученные результаты исследования вносят вклад в понимание этиологии НО в Якутии. Ранняя диагностика НО позволяет своевременно проводить терапевтические и реабилитационные мероприятия, способствующие замедлению темпов прогрессирования заболевания, проводить раннюю дородовую инвазивную диагностику для предупреждения данной патологии в последующих поколениях в отягощенных семьях.



Сигналы направленного отбора в популяциях коренного населения Сибири

Н.А. Колесников¹, В.Н. Харьков¹, А.А. Зарубин¹, М.И. Воевода², М.А. Губина³, О.В. Штыгашева⁴,
Н.Р. Максимова⁵, А.Л. Сухомясова⁵, В.А. Степанов¹

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск, 634050 Россия

² Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины, Новосибирск, 630060 Россия

³ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, 630090 Россия

⁴ Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова, Абакан, 655000 Россия

⁵ Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, Якутск, 677000 Россия

nik.fleming@mail.ru

Данные о сигналах направленного отбора коренных народов Сибири является важным дополнением к существующим данным о эволюции генофондов и механизмах генетической адаптации населения Евразии. Применительно к микроэволюционным процессам в популяциях человека разрабатывались и разрабатываются различные теоретические концепции и гипотезы, раскрывающие возможные механизмы действия отбора в отношении структуры генофонда и фенотипа популяций человека, в том числе моногенных и хронических распространенных болезней.

Всего в анализе было использовано 2387 образца из 14 регионов, из которых 799 образца представляют 28 популяций коренного населения Сибири. Для поиска сигналов направленного отбора использовался тест на протяженную гомозиготность гаплотипов (nSL). Анализ проведен по массиву данных из 1307442 SNP. Всего было найдено 1781 SNP ($p > -\log_{10}(1e-5)$), имеющие сигналы направленного отбора, попадающих в функциональные участки 1703 гена, и 1795 SNP, расположенных в межгенных участках. В 353 генах найденные сигналы отбора, встречающиеся только в популяциях Сибири (для исследуемых популяций). Восемь генов (*IFT88*; *PTPRN2*; *TG*; *ELMO1*; *LIMCH1*; *LOC285766*; *NAALADL2*; *RUBCN*), имеющих сигналы направленного отбора, повторяются не более чем у 4 популяций, 7 генов (*CNTNAP2*; *DOCK8*; *DLG2*; *ICA1*; *CACNA1C*; *CSMD1*; *KLF12*;) у пяти. Ген *ERC1* имеет сигналы отбора у шести популяций, *HECTD2-AS1* — семи популяций и *AGAP1* (*CENTG2*) у восьми (и у 15-ти популяций из других регионов).

Биологические процессы, в которые включены гены найденными сигналами отбора, включают в себя процессы регуляции, в том числе регуляцию клеточной адгезии, метаболические процессы, ответ на стимулы. Анализ регионов, находящихся под отбором, можно использовать в качестве полезной информации для прогнозирования фенотипических и биомедицинских особенностей людей. Полученные результаты, видимо, свидетельствуют об адаптивных изменениях частот аллелей и генотипов в популяциях человека, вызванных направленным действием средовых факторов, связанных с климато-географическими условиями среды.

Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда № 22-64-00060, <https://rscf.ru/project/22-64-00060/>.



Изменение липидного профиля и морфологии экстраклеточных везикул плазмы крови при болезни Паркинсона, ассоциированной с мутациями в гене *GBA1*

А.Э. Копытова^{1, 2}, Т.С. Усенко^{1, 2}, А.С. Силантьев³, В.Д. Лузанова³, А.Д. Изюмченко^{1, 2},
Д.Г. Кулабухова^{1, 2}, Л.А. Гараева¹, И.В. Милюхина⁴, Е.Б. Пичкур^{1, 5}, Н.Б. Захаржевская³, Т.А. Штам^{1, 5},
С.Н. Пчелина^{1, 2}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина

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

³ Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины им. акад. Ю.М. Лопухина Федерального Медико-биологического Агентства, Москва

⁴ Институт мозга человека им. Н.П. Бехтеревой РАН, Санкт-Петербург

⁵ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва

kopytovaalena@mail.ru

Мутации в гене *GBA1*, кодирующем лизосомный фермент глюкоцереброзидазу, приводят к дисфункции данного фермента, нарушению метаболизма сфинголипидов и являются фактором высокого генетического риска нейродегенеративного заболевания — болезни Паркинсона (БП). Предполагается, что нарушения в активности лизосомных ферментов могут приводить к нарушению биогенеза экстраклеточных везикул (ЭВ), приводя к изменению их морфологии и состава.

Цель работы — оценка липидного профиля и морфологии ЭВ плазмы крови пациентов с *GBA*-ассоциированной БП (*GBA*-БП), спорадической БП (сБП) и контроля.

ЭВ были получены ультрацентрифугированием пулированной плазмы крови пациентов с *GBA*-БП (N370S/N) (N = 7), сБП (N = 5) и контроля (N = 12). Концентрация и размер частиц определялись методом анализа траектории наночастиц на анализаторе NTA NanoSight® LM10. Морфология и размеры ЭВ были определены с помощью криоэлектронной микроскопии с использованием микроскопа Titan Krios 60–300 ТЕМ/STEM. Панорамный липидомный анализ был проведен с использованием метода УВЭЖХ-ВП-МС/МС (Exion LCAD + Sciex 6600 QTOF). Дифференциальный анализ липидома ЭВ был проведён с использованием библиотеки lipidr в среде R (v.4.3.2).

Среди ЭВ преобладали одиночные везикулы сферической формы (45,9% для *GBA*-БП, 89,0% для сБП и 66,7% для контроля). ЭВ пациентов с *GBA*-БП отличаются по своей морфологии от контроля и сБП, характеризуясь усложнением структуры ЭВ. По размеру ЭВ пациентов с *GBA*-БП (132,2 (50–491,3) нм) были больше диаметром по сравнению с контролем (112,3 (35–264,6) нм) и пациентами со сБП (87,7 (55,2–263,5) нм) ($p = 0,007$ и $p < 0,001$, соответственно). В результате липидомного анализа ЭВ плазмы крови было идентифицировано 274 липида. Дифференциальный анализ липидома выявил в ЭВ пациентов с *GBA*-БП 94 липида и 121 липид, которые статистически значимо отличались от пациентов со сБП и контроля, соответственно. Выявленные липиды преимущественно относились к классам диглицеридов и триглицеридов. Липидомный профиль ЭВ группы сБП статистически отличался от контроля на 151 липид, где основной класс был представлен триглицеридами.

Впервые было выявлено изменение морфологии ЭВ плазмы крови при *GBA*-БП, которое, предположительно, может быть объяснено изменением липидного состава ЭВ вследствие дисфункции фермента глюкоцереброзидазы. Можно предположить, что изменение липидного профиля ЭВ, переносящих альфа-синуклеин, влияет на формирование нейротоксических агрегатов денного белка и может играть роль в патогенезе БП.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 19-74-20146-п.



Генетические основы предпочтений в пищевом поведении

М.Е. Лобанов¹, О.И. Гуменюк¹, Ю.В. Черненко¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
mishalobanov2016@bk.ru

Актуальность. Персонализированный подход в формировании здорового образа жизни возможно выстроить за счет изучения генетической предрасположенности к вкусовым предпочтениям [1, 2]. Изучение генетической основы пищевого поведения способствует формированию правильной стратегии снижения рисков развития различных заболеваний среди населения и может стать основой будущей национальной программы здорового питания, основанной на индивидуальности своего региона.

Материалы и методы. Проведено анкетирование по вопросам вкусовых предпочтений и анализ результатов генетических паспортов 55 пациентов в возрасте 17–21 года (средний возраст $19 \pm 1,2$ года). Генетический паспорт в рамках полного секвенирования генома выполнен в медико-генетической лаборатории «Эвоген» при поддержке Благотворительного фонда медико-социальных генетических проектов помощи «Геном жизни».

Результаты. При анализе генетических паспортов изучались следующие гены: FGF21, TAS2R38, CD36. У 69% пациентов выявлена генетическая предрасположенность в употреблении сладких продуктов, в 99% случаев эти пациенты предпочитали употреблять сладости. В 12% выявлено наличие предпочтения и в 19% отсутствие потребностей в употреблении сладких продуктов. Повышенная чувствительность к горькому вкусу преобладала в 56% случаев, в то время как нормальная чувствительность составляла всего 10%; у 34% обследованных прослеживалась умеренная чувствительность к горькому вкусу. Пациенты с повышенным предпочтением к жирной пище составили 31%, в их рационе преобладали колбасные изделия, жареные продукты. В 50% случаев отмечена умеренная и в 19% низкая потребность в жирной пище.

Выводы. Выявление генетической предрасположенности к вкусовым предпочтениям служит ключевым инструментом в построении правильной модели пищевого поведения, способной снизить риск развития множества заболеваний.

- [3] Захарова И. Н., Дмитриева Ю. А., Мачнева Е. Б., Цуцаева А. Н. Формирование вкусовых предпочтений: анатомические и генетические детерминанты, значимые факторы развития вкуса у детей // РМЖ. Мать и дитя. 2020; 3(2): 119–125. doi: 10.32364/2618–8430–2020–3–2–119–125.
- [4] Черненко Ю. В., Гуменюк О. И., Глушаков И. А., Глушакова В. Д. Некоторые аспекты формирования рационов питания детей разных возрастных групп // РМЖ. Мать и дитя. 2023; 6(2): 169–174. doi: 10.32364/2618–8430–2023–6–2–169–174.



Средовые факторы риска модифицируют ассоциацию полиморфного варианта rs17713054 с тяжелым течением COVID-19

А.В. Локтионов¹, К.А. Кобзева¹, Е.В. Кольберг¹, В.Г. Кудрявцев¹, В.А. Сергеева¹, О. Ю. Бушуева¹

¹ Курский государственный медицинский университет, Курск
ofig27@rambler.ru

Аннотация: COVID-19 — это вирусное инфекционное заболевание, вызываемое тяжелым острым респираторным синдромом коронавируса 2 (SARS-CoV-2), которое демонстрирует вариабельность характера клинических симптомов у инфицированных пациентов. Понимание того, почему у некоторых людей наблюдается бессимптомное или легкое течение заболевания, в то время как других госпитализируют в отделения интенсивной терапии с тяжелой органной недостаточностью, остается значимой проблемой клиницистов. Решение этой проблемы требует выявления как средовых, так и генетических факторов риска.

Цель: Целью нашего исследования было оценить влияние полиморфного варианта rs17713054, установленного проведенными ранее GWAS и локализованного в межгенной области *SLC6A20-LZTFL1*, на тяжесть течения COVID-19 в популяции Центральной России, установить наиболее значимые генно-средовые взаимодействия.

Методы: В исследование были включены 798 неродственных лиц из Центральной России, в том числе 199 пациентов с COVID-19, госпитализированных в отделения реанимации и интенсивной терапии стационаров г. Курска, и 599 пациентов контрольной группы с легкой формой COVID-19. Генотипирование rs17713054 *SLC6A20-LZTFL1* проводили с помощью ПЦР в реальном времени по методике, разработанной в лаборатории геномных исследований НИИГМЭ. Для оценки ассоциаций использовалась лог-аддитивная регрессионная модель. Ресурсы биоинформатики были использованы для анализа функциональных эффектов SNP.

Результаты: Мы определили, что аллель А rs17713054 *SLC6A20-LZTFL1* (OR = 1,78, 95%CI = 1,22–2,6, P = 0,0032) увеличивает риск тяжелого течения COVID-19 независимо от пола и возраста. Эта ассоциация может быть модифицирована курением, потреблением свежих фруктов и овощей, а также уровнем физической активности. Кроме того, лица, несущие аллель риска А rs17713054, чаще страдают ожирением (P = 0,0062) и имеют повышенные показатели тромбодинамики, включая увеличение максимальной оптической плотности образующегося сгустка (P = 0,02), повышение времени появления спонтанных сгустков (P = 0,036) и рост размера сгустка через 30 минут после активации коагуляции (P = 0,036). Транскрипционные факторы, связанные с аллелем риска А rs17713054, ассоциированы с позитивной регуляцией хозяином вирусной транскрипции (GO:0043923), интегрированной передачей сигналов в ответ на стресс (GO:0140467), сигнальном пути рецептора трансформирующего фактора роста бета (GO:0007179) и дифференцировкой жировых клеток (GO:0045444); также аллель А приводит к потере ответа на гипоксию (GO:0001666). Биоинформатический анализ выявил влияние аллеля А rs17713054 *SLC6A20-LZTFL1* на экспрессию других генов посредством cis-eQTL-эффектов: гена *FLT1P1*, нарушающего регуляцию *VEGFR1* и приводящего к утяжелению течения заболевания; на экспрессию хемокиновых рецепторов (*CCR1*, *CCR2*, *CCR3*, *CCR5*, *CCR9*, *CXCR6*), что может способствовать прогрессированию цитокинового шторма при COVID-19; на экспрессию гена *SACM1L*, связанного с тяжестью течения COVID-19.

Заключение. В нашем исследовании реплицирована ассоциация rs17713054 с тяжелым течением COVID-19, установленного проведенными ранее GWAS (аллель риска А). Кроме того, мы впервые определили факторы окружающей среды, которые модифицируют эту связь, и выявили влияние rs17713054 на параметры тромбодинамики.



Анализ клонов, содержащих двуцепочечные разрывы ДНК

О.Д. Манагарова¹, Е.Е. Слынько¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский биотехнологический университет (Росбиотех)», Москва
managarolivvia@gmail.com

Двуцепочечные разрывы являются естественным состоянием ДНК, чтобы уменьшить скручивающее напряжение для транскрипции, репликации или рекомбинации, и может быть вызвано неблагоприятными техногенными факторами окружающей среды: химическим, физическим и биологическим агентами [Teves S. S. et al 2014]. Мутагены и канцерогены могут присутствовать в дыме, саже и смоле и изменять последовательности нуклеиновых кислот, включая замену пар нуклеотидных оснований, вставки и делеции нескольких нуклеотидов [Текуцкая Е. Е. и др. 2015]. Рентгеновское и гамма-излучение вызывают разрывы двуцепочечной структуры, из-за чего клетки не могут транскрибировать ген, который кодирует пораженную ДНК [Аклеев А. В. и др. 2011]. Ультрафиолетовое излучение, которое широко применяют, например при фотохимической обработке и производстве красок, сшивает соседние основания цитозина и тимина и образует пиримидиновые димеры, которые нарушают структуру и функции генетического материала [Дорожук Н. А. и др. 2014]. Основной фундаментальной задачей работы являлся поиск двуцепочечных разрывов ДНК человека биотинилированными олигонуклеотидами и вставка наработанных фрагментов в плазмиды.

В ходе исследования выделение ДНК проводилось из букального эпителия человека. При выделении ДНК последовательностей с двуцепочечными разрывами использовалась процедура RAFT (Reversible Addition-Fragmentation chain Transfer) [Tchurikov N. A. et al., 2011]. Лигирование осуществлялось праймером, на одном конце которого находилась биотиновая метка, по которой отбирались нужные образцы на парамагнитных частицах. Биотиновую метку убирали рестрикцией с использованием фермента EcoRI. На полученных образцах нарабатывали ампликоны, которые в дальнейшем вводили в плазмиду pGEM-T Easy и высевали на питательную среду с X-Gal. В последующем проводился анализ результативности рекомбинации исследуемых ПЦР-продуктов в плаزمиде [Hoseini S. et al., 2015]. Далее трансформированные плазмиды выделялись методом MiniPrep.

Рестрикция ферментом EcoRI с проверочным электрофорезом показала наличие последовательностей нужной длины в двух образцах плазмид из десяти. Это указывает на низкий процент вставки последовательностей в плазмиды. По специфичности сайтов рестрикции EcoRI результаты секвенирования подтвердили результат гель-электрофореза. Нуклеотидные последовательности между сайтами рестрикции анализировали с помощью программы BLAST в NCBI. Исследования двуцепочечных разрывов ДНК человека и анализ полученных результатов продолжаются.



Профиль экспрессии длинных некодирующих РНК и генов, вовлеченных в клеточное старение и окислительный стресс у больных с хронической обструктивной болезнью легких

В.А. Маркелов¹, Л.З. Ахмадишина¹, Т.Р. Насибуллин¹, Г.Ф. Корытина¹

¹ Институт биохимии и генетики — обособленное структурное подразделение Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук

guly_kory@mail.ru

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) — многофакторное хроническое гетерогенное воспалительное заболевание респираторной системы. Патогенез ХОБЛ может включать нарушение регуляции стрессовых реакций, препятствующих клеточному старению. С целью оценки вклада генов, вовлеченных в ключевые сигнальные каскады, связанные с окислительным стрессом и клеточным старением, в молекулярный патогенез ХОБЛ проведена оценка профиля экспрессии длинных некодирующих РНК (*TP53TG1*, *LINC00342*, *H19*, *MALAT1*, *DNM3OS*, *MEG3*) и белок-кодирующих генов (*PTEN*, *TGFB2*, *FOXO3*, *KEAP1*) в мононуклеарных клетках крови больных с ХОБЛ (n=92) и контрольной группы (n=81). Впервые показано изменение профиля экспрессии *TP53TG1*, *LINC00342*, *DNM3OS* у больных ХОБЛ. Подтвержден вклад *MALAT1* и *TGFB2* в патогенез ХОБЛ. Установлено значимое снижение уровней экспрессии *TP53TG1* (Fold Change=0.1532, Fold Regulation = -6.5244, P=0.0001), *DNM3OS* (Fold Change =0.5176, Fold Regulation = -1.9317, P=0.0076) и *TGFB2* (Fold Change =0.3639, Fold Regulation = -2.7476, P=0.0001). Уровни экспрессии *MALAT1* (Fold Change =6.983, P=0.0001) и *LINC00342* (Fold Change =2.874, P=0.0029) у больных ХОБЛ были увеличены. По результатам множественного регрессионного и ROC-анализа, была определена высокоинформативная прогностическая модель, которая включала одновременную оценку уровня экспрессии *TP53TG1* и *TGFB2* (AUC=0.92, чувствительность — 73.2%, специфичность — 92.3%). Установлена положительная корреляция уровней экспрессии *MALAT1*, *DNM3OS*, *TGFB2*, *FOXO3* и *KEAP1* с параметрами функции легочного дыхания, отражающими прогрессирование заболевания. Дифференциально экспрессирующиеся длинные некодирующие РНК и белок-кодирующие гены функционально вовлечены в регуляцию широкого спектра процессов, таких как апоптоз, воспаление, фиброгенез, эпителиально-мезенхимальный переход, что указывает на активную роль процессов клеточного старения в молекулярном патогенезе ХОБЛ. Связанные с клеточным старением и окислительным стрессом некодирующие РНК, как потенциальные биомаркеры и мишени для терапии, могут стать основой для разработки новой стратегии диагностики и лечения ХОБЛ.

Исследование поддержано грантом Российского научного фонда № 23-25-00019, <https://rscf.ru/project/23-25-00019>.



Анализ транскрипции генов системы репарации при ВПЧ-инфекции

Е.В. Машкина¹, В.В. Вольчик¹, Е.С. Музлаева¹, З.Ш. Исаева¹

¹ Южный федеральный университет

lenmash@mail.ru

Вирус папилломы человека (ВПЧ) является одной из основных этиологических причин развития рака шейки матки. Вероятность дисплазии эпителиальных клеток зависит от длительности персистенции вируса, вирусной нагрузки, функциональных особенностей генотипа человека. Формирование клинически значимой вирусной нагрузки за счет амплификации вирусного генома может сопровождаться активацией механизмов контроля клеточного цикла и репарации ДНК человека. Целью данной работы было проанализировать транскрипцию генов *CHEK2*, *TP53*, *TP73*, *CDKN2A*, *APEX1*, *ERCC2* в эпителиальных клетках цервикального канала женщин при клинически значимой концентрации ВПЧ. Материалом для исследования послужили образцы РНК, выделенные из клеток цервикального эпителия женщин. Контрольную группу составили 52 женщины, не инфицированные ВПЧ. Во вторую группу вошли 55 женщин с клинически значимой концентрацией ВПЧ. В исследование были включены женщины старше 30 лет. Относительный уровень мРНК исследуемых генов определяли методом qRT-PCR относительно гена *GAPDH*.

В результате исследования установлено, что в 100% образцов выявляются транскрипты *TP53*; транскрипты *CHEK2* обнаружены в 96% образцов. Для большинства образцов характерна транскрипция *TP73* (69% и 73% в контроле и при ВПЧ-инфекции) и *CDKN2A* (58% и 62% в контроле и при ВПЧ-инфекции). Установлено, что при клинически значимой вирусной нагрузке доля образцов эпителиальных клеток с транскрибируемыми генами *APEX1* и *ERCC2* на 20% выше по сравнению с контрольной группой ($p < 0.05$), что может отражать структурные и функциональные изменения генома человека при значимой концентрации ВПЧ в эпителиальных клетках.

В контроле уровень транскрипции *CHEK2* коррелирует с уровнем транскрипции *TP53* и *TP73* ($p < 0.001$ и $p = 0.003$, соответственно). При этом активность транскрипции *TP53* связана с уровнем транскрипции *APEX1* ($p = 0.033$) и *CDKN2A* ($p = 0.014$).

При клинически значимой вирусной нагрузке при ВПЧ-инфекции не выявлено сопряженности транскрипции *TP53* и *CDKN2A*. В то же время транскрипция *TP53* связана с уровнем транскрипции *TP73* ($p < 0.0001$). Содержание мРНК *TP73* коррелирует с концентрацией ВПЧ в клетках эпителия ($p = 0.003$).

Таким образом, установлена повышенная частота транскрипции генов *APEX1* и *ERCC2* и изменение характера коэкспрессии исследуемых генов при ВПЧ-инфекции.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности № FENW-2023-0018.



Оценка информированности ученых и медицинских работников в Российской Федерации о биобанкировании как первый шаг к преодолению барьера между пациентом и биобанком

А. А. Михайлова¹, Е. С. Богомякова², Р. А. Илларионов¹, З. Н. Тонян¹, Ю. А. Насыхова¹, А. С. Глов¹

¹ ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д. О. Отта», Санкт-Петербург

² СПбГУ, Санкт-Петербург

anamikhajlova@gmail.com

Биобанки положительно зарекомендовали себя как эффективный инструмент в различного вида отраслях от экологии до персонализированной медицины. Однако, как показывает практика, не всегда научно-медицинское сообщество полностью осознает важность и ценность биобанков, в связи с чем развитие данной отрасли в России идет недостаточными темпами. В докладе приведены результаты опроса по теме биобанкирования и донорства образцов биологического материала сотрудников 3 научных и образовательных организаций, входящих в состав Сетевого Российского Центра БРК «Репродуктивное здоровье человека» — НИИ АГиР им. Д. О. Отта (Санкт-Петербург), МГНЦ им. Н. П. Бочкова (Москва) и СурГУ (Сургут). Опрос прошло 177 человек. Результаты показали, что в целом о биобанках слышало 88% опрошенных, из них 93% согласны с тем, что образцы представляют собой высокую научную ценность. Большинство респондентов (93%) выразило согласие участвовать в развитии биобанка Сетевого Центра, 86% опрошенных готовы предложить своим знакомым и пациентам пожертвовать биологический материал для биоресурсной коллекции, однако ранее это делало только 35% из них, и лишь 12% сами являлись донорами. По итогам исследования была дана оценка уровня информированности ученых и клинических специалистов о биобанках и их деятельности, были выявлены слабые места, а также установлены возможные пути решения проблем, стоящих перед специалистами в сфере биобанкирования. Для преодоления имеющихся трудностей, таким образом, первостепенными задачами являются повышение уровня информированности о биобанках по стране в целом, а также преодоление барьера между врачом и пациентом.



Роль нарушений метаболизма меди в повышении риска развития болезни Паркинсона

З.М. Муружева¹, М.Н. Карпенко², Е.Ю. Ильичева³, Л.В. Пучкова³

¹ ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург

² ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, СПб политехнический университет Петра Великого,

³ ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, СПб политехнический университет Петра Великого, Университет ИТМО, Санкт-Петербург

zamira.muruzheva@mail.ru

Болезнь Паркинсона (БП) — хроническое прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, развивающееся преимущественно вследствие дегенерации дофаминергических нейронов черной субстанции (ЧС) и проявляющееся сочетанием гипокинезии с мышечной ригидностью, тремором и постуральными нарушениями, а также разнообразными немоторными симптомами. Цитологической и частичной биохимической манифестацией БП является присутствие в ЦНС телец Леви — скопления агрегатов белка альфа-синуклеина и железа (Fe). Примерно у 30% пациентов с БП также наблюдают снижение показателей статуса меди (ПСМ), к которым относят концентрацию Си, антигенную и оксидазную активность церулоплазмينا (ЦП), основного внеклеточного Си-транспортного белка, принадлежащего семейству мультимедных голубых ферроксидаз. Однако связь между ПСМ, развитием БП и особенностями ее протекания все еще остается неясной. В работе особенности баланса меди изучены у 50 пациентов в возрасте от 57 до 72 лет с точно установленным диагнозом БП. Контрольную группу составили 50 здоровых добровольцев в возрасте от 55 до 74 лет. В сыворотке крови испытуемых методом атомно-абсорбционной спектроскопии измерена [Cu], методом иммуноблоттинга определена концентрация белка ЦП и методом прямого испытания в геле измерено содержание оксидазного ЦП. Примерно у трети пациентов с БП, по сравнению с контролем, ПСМ были снижены. В этой группе количество атомов Си на молекулу ЦП было ниже, чем в контрольной группе, почти в 2 раза. Снижение обусловлено потерей слабо ассоциированной Си. Секвенирование экзона 14, кодирующего нуклеотид-связывающий домен АТР7В, медь-транспортную АТФазу Р1 типа, ответственную за ПСМ, выявило пациента с БП, несущего в одном аллеле замену С1079G. Сравнение аминокислотных последовательностей известных АТР7А/В показало, что С1079 является инвариантным. По данным молекулярной динамики замена С1079G нарушает связывание АТР. На основе мета-анализа и анализа литературы в работе предлагается рабочая гипотеза, рассматривающая часто встречающиеся случаи дисгомеостаза меди при БП как отражение генетических дефектов белков системы транспорта меди.

Работа выполнена по Государственному заданию № FGWG-2022-0008 и № FGWG-2022-0009.



Взаимосвязь дисфункции глюкоцереброзидазы и накопления альфа-синуклеина при наличии мутаций в гене *GBA1* в контроле и при болезни Паркинсона

М. А. Николаев^{1, 2}, А. Э. Копытова^{1, 2}, А. Д. Изюмченко^{1, 2}, И. В. Милюхина³, Г. В. Байдакова⁴,
А. К. Емельянов^{1, 2}, Е. Ю. Захарова⁴, С. Н. Пчелина^{1, 2}

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина, Россия

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

³ Институт мозга человека им. Н.П. Бехтеревой РАН, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Медико-генетический научный центр им. акад. Н.П. Бочкова, Москва, Россия

almaflex@mail.ru

Мутации в гене *GBA1*, кодирующем лизосомальный фермент глюкоцереброзидазу (GCase), являются наиболее распространенной генетической причиной болезни Паркинсона (БП) (повышают риск развития БП в пять-семь раз и изменяют проявления БП, вызывая более ранний возраст начала, более тяжелую когнитивную дисфункцию и ускоренное прогрессирование нейродегенеративного процесса). Однако у большинства носителей мутаций в гене *GBA1* паркинсонизм никогда не развивается, поэтому очевидно, что играют роль другие факторы риска.

Целью настоящего исследования было сопоставить накопление белка альфа-синуклеина, активность GCase и уровень белка катепсина Д в первичных макрофагах пациентов с БП с мутациями в гене *GBA1* (GBA-БП), здоровых носителей мутаций гена *GBA1* (GBA-носители), пациентов со спорадическим БП (сБП) и контрольной группы.

В настоящем исследовании были оценены в клетках первичной культуры макрофагов пациентов исследуемых групп: активность GCase, уровни белка альфа-синуклеина и катепсина Д. Был проведен корреляционный анализ полученных биохимических характеристик.

Было показано снижение активности GCase в макрофагах у гетерозиготных носителей мутаций гена *GBA1* по сравнению с контролем. Уровень белка катепсина Д был снижен в макрофагах GBA-носителей $0,44 \pm 0,25$, но не у GBA-БП $0,43 \pm 0,18$ по сравнению с контролем $0,62 \pm 0,19$ ($p=0.038$ and $p=0.008$ соответственно). Уровень белка GCase был снижен в макрофагах GBA-носителей $0,49$ ($0,08-1,18$), со сБП $0,78$ ($0,09-1,85$), но не у GBA-БП $1,25$ ($0,11-3,20$) по сравнению с контролем $1,83$ ($0,46-3,74$) ($p=0.012$, $p=0.025$ и $p=0.503$, соответственно). Была выявлена обратная корреляция между уровнем белка альфа-синуклеина и активностью GCase ($r=-0.657$, $p=0.001$) и уровнем белка катепсина Д ($r=-0.537$, $p=0.010$) в макрофагах носителей мутаций гена *GBA1* (GBA-носители и GBA-БП). При этом уровень белка катепсина Д положительно коррелировал с активностью GCase ($r=0.781$, $p<0.0001$) в макрофагах носителей мутаций гена *GBA1* (GBA-носители GBA-БП).

Исходя из полученных данных, можно предполагать, что дисфункция GCase и последующее изменения в уровнях белков катепсина Д и альфа-синуклеина в крови связано именно с носительством мутаций в гене *GBA1*, а не с наличием клинических проявлений БП.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема No1023031500037-7-1.6.8;1.6.1;1.6.2;1.6.3 Изучение молекулярных и клеточных компонентов патогенеза социально-значимых заболеваний для разработки методов ранней диагностики и лечения).



Ассоциация полиморфного варианта rs547025 гена *SIRT3* с развитием миомы матки в популяции Центральной России

Л.А. Пономарева¹, К.А. Кобзева^{1,2}, А.В. Дорофеева¹, О.Ю. Бушуева¹

¹ Курский государственный медицинский университет, Курск

² Курский государственный университет, Курск

liubov.ponomareva07@gmail.com

Аннотация: Миома матки (ММ) — распространенное гинекологическое заболевание, оказывающее существенное влияние на здоровье и качество жизни женщин в репродуктивном возрасте. Этот патологический процесс характеризуется формированием доброкачественных опухолей в стенках матки, приводящих к различным клиническим проявлениям, таким как болезненные менструации, дисменорея, бесплодие и даже повышенный риск осложнений во время беременности. Несмотря на значительные усилия медицины и науки, причины и механизмы развития миомы матки остаются предметом активных исследований. Широкогеномные исследования ассоциаций (GWAS) успешно выявляют генетические варианты, связанные с многофакторными заболеваниями, такими как ММ. Эти данные помогают понять молекулярные механизмы развития заболевания и способствуют разработке новых лекарственных препаратов и методов профилактики.

Цель: Целью настоящего исследования репликационное исследование ассоциации полиморфизма rs547025 гена *SIRT3*, установленного GWAS европейских популяций, с риском развития ММ в популяции Центральной России.

Методы: образцы ДНК 654 пациентов с ММ, 401 здоровых лиц были генотипированы методом ПЦР в реальном времени по полиморфизму rs547025 *SIRT3*. Для оценки ассоциаций была использована лог-аддитивная регрессионная модель. Для анализа функциональных эффектов SNPs пользовались следующими биоинформатическими ресурсами, доступными онлайн: GTEx Portal (<https://gtexportal.org/home/>), HaploReg v4.2 (<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>), Reproductive system knowledge portal (<https://reproductive.hugeamp.org/>).

Результаты: Установлена выраженная связь между полиморфизмом rs547025 *SIRT3* и снижением риска развития ММ (протективный аллель С; OR=0,64, 95% CI=0,47–0,88, P=0,0054). Дальнейший функциональный анализ с использованием биоинформатического ресурса HaploReg v4.2 показал, что rs547025 *SIRT3* расположен в области связывания ДНК с H3K4me1 и H3K27ac, маркирующих энхансеры в клетках крови. Более того, rs547025 оказывает значительные cis-eQTL-опосредованные эффекты на уровень экспрессии гена *RIC8A* в жировой ткани и крови, а также генов *PSMD13*, *BET1L*, *SCGB1C1*, *ODF3*, *IFITM2*, *IFITM1*, *IFITM3* и *PTDSS2* в крови. Примечательно, что *BET1L* ранее был связан с риском ММ, тогда как *IFITM1* служит высокочувствительным маркером эндометриоза. Эти результаты дают ценную информацию о потенциальных патофизиологических путях, на которые влияет полиморфизм *SIRT3* в контексте развития ММ. Кроме того, данные Reproductive system knowledge portal указывают на значительную связь между вариантом rs547025 и возрастом наступления менопаузы (P=0,036; beta= -0,012), что представляет дополнительные доказательства участия *SIRT3* в процессах регуляции функционирования репродуктивной системы.

Заключение. Таким образом, полиморфизм rs547025 *SIRT3* представляет собой значимый генетический маркер риска ММ в популяции Центральной России и может использоваться в качестве значимого прогностического маркера заболевания.



Поиск и функциональный анализ регуляторных полиморфизмов в сайтах связывания микроРНК на основе омиксных технологий

Е.Ю. Рыкова¹, Н.И. Ершов², А.О. Дегтярева², Л.О. Брызгалов², Т.И. Меркулова²

¹ ФГБНУ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск; НГТУ, Новосибирск, РФ

² ФГБНУ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, РФ

rykova.elena.2014@gmail.com

Проведён масштабный поиск генетических вариантов, обнаруживших различную представленность аллелей в транскриптомных данных (AE SNPs), в сайтах связывания микроРНК в 3'-НТО, а также оценка их функциональной значимости с использованием массового параллельного репортерного анализа (MPRA). Из 629 559 аллелей SNPs (eQTLs), найденных в ткани печени человека, по данным консорциума GTEx Analysis v8, были выбраны 4394 полиморфные позиции в 3'-НТО генов, являющиеся eQTLs для этих же генов. Для поиска потенциальных сайтов связывания микроРНК использовали алгоритм TargetScanHuman 7.0 и ресурс PolyMI RTS. Из предсказанных сайтов микроРНК, затрагиваемых eQTL-SNPs, был выбран 51 сайт с наилучшим свидетельством функциональности по экспериментальным данным Ago2-CLIP-seq, CLEAR-CLIP, eCLIP-seq для РНК-связывающих белков. Для анализа методом MPRA создана библиотека плазмид, содержащих в 3'-НТО гена EGFP для каждого AE SNPs основной и альтернативный аллели (102 конструкции). Проведены 3 эксперимента по трансфекции клеточной линии HepG2, полученной библиотекой плазмид и секвенирование целевых последовательностей ДНК и РНК на платформе Illumina (MiSeq). В экспериментах по МПРА показано, что 40% (20 из 50) потенциальных mirSNPs влияют на уровень экспрессии гена EGFP в клетках HepG2, вероятно, под действием эндогенных микроРНК. Экспериментальная проверка методом трансфекции клеток HepG2 и HEK 293 индивидуальными плазмидами, несущими один из аллелей для 4-х mirSNPs, показала различное влияние аллелей на экспрессию репортерного гена и выявила действующие на них микроРНК. Таким образом, масштабный анализ транскриптома (RNA-seq) и высокопроизводительный репортерный анализ (MPRA) являются эффективными инструментами выявления функциональных SNPs, затрагивающих таргетные сайты микроРНК, расположенные в 3'-НТО мРНК-мишеней.

Работа выполнена при поддержке РФ (грант № 23-15-00113).



Амилоидогенез и рак: поиск новых потенциальных мишеней для терапии

М.В. Рябинина¹, А.А. Зелинский¹, Ю.О. Чернов², А.А. Рубель¹

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

² School of Biological Sciences, Georgia Institute of Technology, Atlanta, GA, USA

marina.ryabinina.v@gmail.com

Онкологические заболевания до сих пор остаются на первом месте среди причин смерти из-за широкого спектра молекулярных механизмов патогенеза. Часто раковое перерождение клеток сопровождается нарушением протеостаза. Одним из последствий таких изменений является формирование амилоидов — белков фибриллярной природы, которые обладают межмолекулярной кросс-бета структурой. Исследования показали, что амилоиды и амилоидогенные белки связаны с различными видами опухолей. Некоторые из этих белков, такие как p53, контролируют стабильность генома и ход клеточного цикла. Присутствие избыточного количества амилоида SAA в сыворотке крови коррелирует с развитием рака легких, молочной железы и меланомы. Белок S100A9, один из ключевых факторов, способствующих нейровоспалению, связан с инвазией рака простаты и прогрессированием заболевания. Белок IAPP связан с нейроэндокринными опухолями, а ODAM — с одонтогенными новообразованиями [1]. Используя биоинформатические алгоритмы, мы выявили амилоидогенный потенциал у 5 транскрипционных факторов, участвующих в патогенезе раковых заболеваний. Экспериментальная проверка амилоидогенного потенциала исследуемых белков в дрожжевой модели [2] частично подтвердила данные, полученные *in silico*. Целью данной работы было проверить амилоидный потенциал исследуемых белков *in vivo* и *in vitro*. Для этого мы использовали бактериальную систему продукции и экспорта C-DAG [2], и/или рекомбинантные белки, выделенные и очищенные нами при помощи металл-аффинной хроматографии из *E. coli*. Для транскрипционных факторов, продемонстрировавших амилоидогенный потенциал *in vitro*, мы проанализировали амилоидные свойства в культуре клеток человека HEK293T. Полученные в работе данные позволяют расширить наше представление о белках человека, способных формировать амилоиды, и о связи амилоидогенеза с канцерогенезом.

[1] Kachkin et al. Human RAD51 Protein Forms Amyloid-like Aggregates In Vitro // Int J Mol Sci. 2022 23(19):11657. doi:10.3390/ijms231911657.

[2] Chernoff et al. Application of yeast to studying amyloid and prion diseases // Adv Genet. 2020;105:293–380. doi:10.1016/bs.adgen.2020.01.002.

[3] Sivanathan, Hochschild. A bacterial export system for generating extracellular amyloid aggregates // Nat Protoc. 2013;8(7):1381–90. doi:10.1038/nprot.2013.081.

Исследование выполнено при поддержке СПбГУ (проект № 95444727).



Связь нарушений метилирования в ворсинах хориона с жизнеспособностью эмбрионов с трисомией хромосомы 16 и моносомией хромосомы X

Е. Н. Толмачева¹, Д. И. Жигалина¹, О. Ю. Васильева¹, Д. Г. Шевцов¹, Е. А. Фонова¹, Е. А. Саженова¹,
Т. В. Никитина¹, И. Н. Лебедев¹, С. А. Васильев¹

¹ НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ

kate.tolmacheva@medgenetics.ru

Анеуплоидные кариотипы встречаются примерно у 50% спонтанных абортусов человека. Концепция клеточного синдрома Гринберга предполагает существование канализированного механизма проявления хромосомного дисбаланса, который проявляется неспецифически угнетением роста и развития организма. Одним из возможных факторов реализации этого феномена может быть нарушение уровня метилирования генома эмбрионов с анеуплоидиями. Мы изучили профиль метилирования генома в ворсинах хориона 43 спонтанных абортусов (СА) первого триместра беременности с двумя наиболее частыми анеуплоидиями — трисомией 16 и моносомией хромосомы X — с помощью метилочипа “Infinium HumanMethylation27 BeadChip” (“Illumina”, США) и метода RRBS, и идентифицировали гены, аномальное метилирование которых может быть связано с эмбриолетальностью. В качестве контрольной группы были использованы ворсины хориона 20 индуцированных абортусов обоего пола с нормальным кариотипом. Множество дифференциально метилированных генов (ДМГ) было обнаружено на всех хромосомах набора как у СА с трисомией 16, так и моносомией X. Для более строгой идентификации биологически значимых ДМГ мы использовали критерий $\Delta\beta$ более 0,2. У СА с трисомией 16 были выявлены 17 ДМГ. Среди них мы выделили пять генов, продукты которых участвуют либо в контроле пролиферации клеток (*ANKRD53*), либо в нормальном развитии плаценты (*TRPV6*, *GATA3-AS1*, *SCL13A4*, *CALCB*). Мы подтвердили, что от 15 до 56% CpG-сайтов в промоторных регионах этих генов были гиперметилированы в расширенных выборках эмбрионов с трисомией 16 и контрольной группы с помощью массового параллельного секвенирования. У СА с моносомией X материнского и отцовского происхождения было выявлено 46 общих ДМГ, из них 21 ген участвует в нормальном развитии плаценты и эмбриона, а также регуляции пролиферации клеток. Их дисрегуляция связана с эмбриональной летальностью и преэклампсией. Таким образом, несмотря на то, что для обеих исследованных анеуплоидий aberrантное метилирование наблюдается в различных генах, часть из них связана с пролиферацией клеток и развитием плаценты. Нарушение экспрессии этих генов может приводить к несбалансированной пролиферации и дифференцировке клеток и неадекватной плацентации и, в конечном итоге, к гибели эмбрионов с анеуплоидиями.

Исследования поддержаны грантом РФФ № 23-15-00341.



Исследование спектра микроРНК в плазме крови у пациентов с сахарным диабетом 2 типа

З.Н. Тонян¹, Ю.А. Барбитов¹, Ю.А. Насыхова¹, М.М. Данилова¹, А.А. Михайлова¹, А.С. Готов¹

¹ ФГБНУ «НИИ АГиР им. Д.О. Отта», Санкт-Петербург
ziravard@yandex.ru

Введение: Сахарный диабет 2 типа (СД2) представляет собой хроническое заболевание, характеризующееся резистентностью к инсулину и дисфункцией бета-клеток, ведущей к множеству осложнений. Поиск ранних диагностических маркеров, характеризующих предрасположенность человека к СД2, позволит выявлять группы риска возникновения СД2, давать пациенту своевременные рекомендации для предупреждения развития заболевания в будущем и предотвращать развитие осложнений. Одними из потенциальных ранних диагностических маркеров могут стать микроРНК.

Цель: Проанализировать экспрессию микроРНК в образцах плазмы у пациентов русской этнической принадлежности с СД2 и в контрольной группе.

Материалы и методы: Проанализирован профиль циркулирующих микроРНК в плазме крови у 44 пациентов с СД2 и 22 здоровых лиц методом секвенирования следующего поколения. Анализ дифференциальной экспрессии выполнялся с использованием DESeq2. Функциональный анализ таргетных генов был произведен с использованием баз данных miTarBase, GO и MSigDB. Верификация полученных результатов производилась с использованием метода ПЦР с обратной транскрипцией в режиме реального времени.

Результаты. Идентифицировано 229 дифференциально экспрессированных микроРНК (147 с повышенным уровнем экспрессии у пациентов с СД2, 45 — со сниженным). Верифицирован повышенный уровень miR-5588-5p, miR-125b-2-3p, miR-1284, а также сниженный уровень miR-496 при СД2. При сравнении экспрессионных профилей в аналогичных группах пациентов в зависимости от их индекса массы тела обнаружена дифференциальная экспрессия miR-144-3p и miR-99a-5p у лиц с ожирением. Для miR-5588-5p, miR-125b-2-3p, miR-1284 и miR-496 были проведены идентификация и функциональный анализ таргетных генов, продемонстрировавшие потенциальную значимость генов, ответственных за процессы модификации хроматина и апоптоза, в патогенезе СД2.

Вывод: Исследования по профилированию микроРНК открывают новые перспективы для фундаментальных и прикладных исследований в области СД2. Согласно результатам при СД2 наблюдается дифференциальная экспрессия в плазме miR-5588-5p, miR-125b-2-3p, miR-1284 и miR-496 при СД2, а также miR-144-3p и miR-99a-5p при ожирении. Функциональный анализ продемонстрировал важность таких клеточных процессов, как регуляция клеточного цикла, апоптоз и модификации хроматина в развитии СД2.



Молекулярно-генетическая диагностика пациентов с нервно-мышечными заболеваниями в Томской области

Е.А. Фонова¹, О.Н. Одинокова¹, М.М. Склеймова¹, И.Ж. Жалсанова¹, Л.И. Минайчева¹, Г.Н. Сеитова¹,
Н.А. Скрябин¹

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский
медицинский центр Российской академии наук, г. Томск

fonova.elizaveta@medgenetics.ru

Наследственные нервно-мышечные заболевания (ННМЗ) — это обширный спектр генетически гетерогенных нарушений нервной системы, от прогрессирующих мышечных дистрофий до нарушений передачи нервно-мышечных импульсов. Варьирующий возраст манифестации заболеваний, выраженный клинический полиморфизм и различные типы наследования разных форм ННМЗ приводит к чрезвычайному разнообразию классификаций с учетом пораженного гена или его продукта. Диагностика наследственных нервно-мышечных заболеваний является одной из наиболее сложных проблем в практике врачей-специалистов. Одним из основополагающих аспектов классификации нервно-мышечных заболеваний является молекулярно-генетическая диагностика. Выявление патогенных вариантов приводит к формированию отдельных подтипов и синдромов фенотипически идентичных заболеваний.

Целью нашего исследования было изучение спектра нозологий и молекулярно-генетический анализ ННМЗ в Томской области.

Были проанализированы медицинские карты пациентов, обратившихся за медицинской помощью в Медико-генетический центр (Генетическую клинику) НИИ медицинской генетики в период с 2019 по 2023 год. С целью подтверждения различных типов нервно-мышечных заболеваний было направлено 267 пациентов на молекулярно-генетическую диагностику. Основными диагнозами направления были спинальная мышечная атрофия, миодистрофия Дюшенна-Беккера, наследственная моторная и сенсорная невропатия. Молекулярно-генетическая диагностика проводилась с помощью MLPA-технологии для идентификации частых патогенных вариантов и/или с помощью массового параллельного секвенирования с использованием таргетной мультигеновой панели для поиска точковых мутаций. Из 267 пациентов диагноз был подтвержден у 89 человек (33,3%), из них у 9 человек выявлены редкие точковые мутации. Молекулярно-генетический алгоритм диагностики базируется на последовательном анализе: от поиска наиболее часто встречаемых патогенных вариантов до секвенирования панелей генов и полноэкзомных исследований. Используемый в настоящий момент алгоритм диагностики является эффективным, однако существует необходимость применения более высокоинформативных методов в дальнейшем поиске этиологических причин ННМЗ.



Гаплогруппа N1a2 Y-хромосомы: оценка филогении и возраста этноспецифичных сублиний у народов Сибири и Европы

И.Ю. Хитринская¹, В.Н. Харьков¹, Л.В. Валихова¹, Д.С. Адамов¹, А.А. Зарубин¹, В.А. Степанов¹

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», Томск

khitrinskaya@tnimc.ru

Гаплогруппа N1a2 (ранее обозначавшаяся как N1b и N2), неравномерно распределенная в популяциях Восточной Азии, Сибири и Восточной Европы, представляет собой маркер доисторической связи между азиатскими, сибирскими и европейскими популяциями. Эта гаплогруппа доминирует у всех народов, принадлежащих к группе самодийских языков уральской языковой семьи (нганасан, энцев и ненцев). Значительная частота этой гаплогруппы у хакасов и тувинцев отражает вклад в их современный генофонд самодийских этносов, заселявших эту территорию ранее.

При детальной реконструкции филогении этой гаплогруппы методом полногеномного секвенирования большого количества образцов мужчин из различных этносов показана специфичная структура сублиний N1a2b. Проведено генотипирование терминальных YSNP маркеров N1a2 для более подробного и детального описания её филогении. Рассчитан возраст всех сублиний N1a2 по YSNP. Общий возраст по всем образцам сибирских, среднеазиатских и европейских популяций (P43) составил 4679 лет. Сибирская линия (VL67) практически равна ей по возрасту — 4672 года. Линия B478 специфичная для всех сибирских популяций — 3425 лет. Европейская сублиния N1a2b2a — 2889 лет. Далее идет разделение на более молодые и этнически специфичные варианты этой гаплогруппы. Возраст ненецкой ветви B172 составил 1416 лет, специфичной для хантов линии N1a2b1b1a ~ (Y60943) — 953 года.

Анализ гаплогруппы N1a2b с применением 44 YSTR-маркеров позволил установить их подробную структуру путем построения медианных сетей гаплотипов. Все прогенотипированные образцы характеризуется специфичным спектром гаплотипов, подчеркивающим недавний эффект основателя у различных сублиний. Представители родов у хакасов, шорцев, ненцев, северных и южных алтайцев являются родственниками по мужской линии и имеют родоначальника, жившего в относительно недалеком прошлом. Филогенетический анализ Y-хромосомных сублиний этой гаплогруппы по SNP и YSTR подтверждает, что центром происхождения и расселения носителей самодийского генетического компонента в Западной и Южной Сибири является территория современной Тувы, Хакасии и возможно прилегающих к ним южных территорий. Полученные результаты хорошо согласуются с данными этнологии, антропологии и лингвистики о вкладе аборигенного самодийского населения в формирование различных народов Алтая-Саян, их миграции на север и историческими ареалами самодийских языков, а также подтверждают переселение предков современных этносов относящихся к финно-пермской группе в Восточной Европе с территории Западной Сибири.

Работа выполнена за счет гранта Российского научного фонда №22-64-00060, <https://rscf.ru/project/22-64-00060/>.



Полиморфизм гена *NFE2L2* у детей с избыточной массой тела

Шкурят М.А.¹

¹ Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия

Ожирение — одно из самых распространенных метаболических нарушений в мире. Патогенез ожирения включает нарушение редокс-статуса, что выражается в снижении уровня эндогенных и экзогенных антиоксидантов и повышении уровня активных форм кислорода (АФК). Контроль за уровнем АФК в тканях осуществляет антиоксидантная система. Транскрипционный фактор *Nrf2* является ключевым регулятором клеточного ответа на окислительный стресс путем контроля экспрессии антиоксидантных ферментов.

Целью работы было изучить ассоциацию rs6721961 *NFE2L2* с риском формирования избыточной массы тела у детей и подростков.

Материалом для исследования послужили образцы ДНК, выделенной из крови 410 детей и подростков в возрасте от 4 до 16 лет. Образцы были разделены на 2 группы: контрольная группа ($n = 131$) с нормальным индексом массы тела ($ИМТ = 18,6 \pm 0,12$) и группа детей с избыточным весом ($n = 279$, $ИМТ = 25,8 \pm 0,19$). Анализ rs6721961 ($-617G > T$) *NFE2L2* проводили методом PCR-СТПП.

В результате исследования выявлены статистически значимые отличия в частотах генотипов по rs6721961 *NFE2L2* между двумя исследуемыми группами: среди детей с избыточным весом частота гомозигот $-617TT$ составила 1,8%, в контроле данный генотип составляет 0,8%. В то же время в контроле частота гетерозигот $-617GT$ в 1,9 раз выше. Данный генотип ассоциирован с понижением риска формирования избыточной массы тела у детей ($OR = 0.48$ 95% CI 0.26–0.88). Замена $-617G > T$ локализуется в ARE-последовательности промотора гена *NFE2L2* и приводит к уменьшению эффективности связывания транскрипционного фактора и, следовательно, к снижению уровня транскрипции *NFE2L2* и *Nrf2*-контролируемых генов. При ожирении активация *NFE2L2* оказывает защитный эффект за счет регуляции антиоксидантной защиты. Однако превышение определенного порога в уровне *Nrf2* и продолжительности его синтеза может привести к нарушению редокс-гомеостаза; усилить процесс накопления липидов, что, в свою очередь, может привести к перекисному окислению липидов и повреждению тканей. В связи с этим можно предположить, что гетерозиготность по однонуклеотидной замене в промоторе гена *NFE2L2* создает условия для формирования в клетке оптимального уровня *Nrf2*, достаточного для эффективной работы антиоксидантной системы и не приводящего к активации патологических процессов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки РФ в рамках госзадания № FENW-2023-0018.

Симпозиум 10: Селекция и биотехнология растений
Symposium 10: Plant Biotechnology and Breeding



Resistance of oat genotypes from Federal Research Center «Nemchinovka» to contamination with *Fusarium* fungi

N.P. Gavrilova¹, T. Yu. Gagkaeva¹, A.S. Orina¹, A.S. Kolupaeva², A.D. Kabashov², I.G. Loskutov³

¹ All-Russian Institute of Plant Protection (VIZR), St. Petersburg, Russia

² FRC «Nemchinovka», Moscow Oblast, Russia

³ FRC the N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia

olgavrilova1@yandex.ru

The attention of many Russian oat breeders is focused on the creation of naked oat varieties characterized by improved grain quality and resistance to fungal disease, including *Fusarium* infection (Batalova et al., 2019; Isachkova, Loginova, 2020; Kabashov et al., 2022).

The aim of study was to evaluate the oat genotypes resistance to contamination with *F. langsethiae* fungus producing T-2/HT-2 toxins (T-2/HT-2). During a two-year study, set of naked breeding lines, naked variety Vyatsky (control), and hulled variety Yakov (standard) of oats were grown in the FRC «Nemchinovka» experimental nursery in natural field environmental conditions. After harvesting and threshing, the grain samples were milled, and the flour was used for total DNA and mycotoxins extraction. The amounts of *F. langsethiae* DNA and T-2/HT-2 in the grain were analyzed by TaqMan qPCR and by ELISA, respectively.

The highest content of *F. langsethiae* DNA was revealed in the grain of hulled variety Yakov: 72×10^{-4} pg/ng in 2019 and 30×10^{-4} pg/ng in 2020. In the grain of naked variety Vyatsky, the fungal DNA amount was much lower — 11×10^{-4} pg/ng in 2019 and 8×10^{-4} pg/ng in 2020. The *F. langsethiae* DNA amounts in the grain of naked breeding lines varied in the range of $(1-43) \times 10^{-4}$ pg/ng in 2019 and $(2-25) \times 10^{-4}$ pg/ng in 2020.

The highest sum of T-2/HT-2 was found the in the grain of Yakov — 1230 µg/kg in 2019 and 790 µg/kg in 2020. In the grain of naked control Vyatsky, these mycotoxins were detected in lower amounts: 71 and 23 µg/kg in 2019 and 2020, respectively. The T-2/HT-2 amounts in the grain of breeding lines varied in the ranges of 5–230 µg/kg in 2019 and 10–100 µg/kg in 2020.

Three breeding lines 54h2476, 66h2618, and 57h2396 (Azil) among the analyzed naked oats genotypes have demonstrated relatively high resistance to *F. langsethiae* and mycotoxin contamination compared to the control. These genotypes should be actively used in order to create new oat varieties with an enhanced resistance to *Fusarium* infection and mycotoxin accumulation.

The study was supported by the Russian Science Foundation (project № 19-76-30005).



Coevolution Unveiled: Sulfate Transporters Mediate Rice resistance and susceptibility to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*

Zhiyuan Ji¹

¹ Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing,
lvliuyapei@126.com

Rice serves as a staple food for billions of people worldwide, with nearly half of the global population relying on it as their primary dietary intake. Approximately 90% of rice consumption occurs in Asia. However, its production is challenged by biotic stresses, notably bacterial leaf streak (BLS), pose a significant threat to global food security, causing substantial yield losses. This disease has particularly severe consequences in rice-growing countries across Asia. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (*Xoc*) is the causative agent of BLS, exploiting susceptibility genes in the rice genome through virulent proteins during infection. The genetic loss of susceptibility tends to be recessive, providing broad-spectrum resistance to disease control. However, no natural resistance resource has been reported against BLS to date. Here, we report a novel allele of susceptibility gene *OsSULTR3;6* that confers broad-spectrum resistance to *Xoc*. We revealed Δ EBETalBF predominantly belonging to the Indica III subpopulation and emerged in South Asian rice cultivars. Through the extensive analysis of genome-sequenced cultivar data, we identified a mere 47 cultivars out of 4726 that harbor this resistant allele, highlighting the scarcity of available resistance resources. The artificial induction of *OsSULTR3;6* results in the resumption of susceptibility in Δ EBETalBF cultivars. However, susceptibility genes often exhibit redundancy in the plant genome, providing mimic functions for pathogen. To investigate this phenomenon, we artificially induced all members of the *OsSULTR* gene family. Our investigation resulted in the identification of four new susceptibility-supporting genes when artificially induced under *Xoc* infection. We identified *OsSULTR1;1*, *OsSULTR2;1*, *OsSULTR3;5*, and *OsSULTR5;1* (also known as *OsMOT1;1*) as potential susceptibility genes that confer susceptibility when induced under *Xoc* infection. Our findings illustrate that four related *SULTR* proteins, likely functioning as sulfate transporters, have the capability to enhance *Xoc* virulence. The present study represents the first discovery of natural resource of resistance and provides the basis for understanding *Xoc*-Rice interaction and their coevolution. The discovery of potential susceptibility genes offers valuable insights for managing the disease. These results contribute to our understanding of the disease virulence mechanism, rice evolution to evade susceptibility, and offer valuable resources for rice breeding for resistance.



Pathogenicity of *Fusarium* fungi to potato cultivars

A. S. Orina¹, O. P. Gavrilova¹, I. I. Trubin¹, T. Yu. Gagkaeva¹

¹ *All-Russian Institute of Plant Protection (VIZR)*

orina-alex@yandex.ru

Potato dry rot is widespread disease, caused by several *Fusarium* species (Azil et al., 2021; Tiwari et al., 2020). Information on the aggressiveness of these fungi, as well as the susceptibility of potato cultivars to *Fusarium* infection are important for characterization the host-pathogen relationships.

The 24 strains belonging to 12 *Fusarium* species isolated from potato with dry rot symptoms from different regions of Russia, were selected from the fungal culture collection of VIZR and identified using multilocus phylogenetic analysis. Pathogenicity of all strains was analyzed by inoculation of the potato tubers of cv. Gala, Impala, and Red Lady, according to the tuber plugging method (Gagkaeva et al., 2023). At least five tubers were inoculated with each fungal strain, and incubated at 23 °C for 4 weeks. Then each tuber was cut across the hole and the width and depth of rotted tissue was measured (mm), the average value was calculated excluding the size of the mechanical damage in the control.

The aggressiveness of *Fusarium* species to cause of damage of tubers significantly varied. The less aggressive strains to tubers of all cultivars were detected in *F. equiseti* (the average size of damage was $2.5 \pm 0.3 - 5.0 \pm 3.8$ mm), *F. redolens* ($2.9 \pm 1.2 - 5.5 \pm 0.9$ mm) and *F. sporotrichioides* ($5.7 \pm 0.4 - 7.7 \pm 0.5$ mm), while the most extensive necroses of tubers were caused by *F. commune* ($24.0 \pm 11.8 - 40.1 \pm 3.6$ mm), *F. nirenbergiae* ($31.3 \pm 1.3 - 36.1 \pm 2.3$ mm), and *F. graminearum* ($27.3 \pm 3.4 - 39.2 \pm 2.2$ mm) fungi. The significant correlation ($r = 0.66 \div 0.83$, $p < 0.0001$) between the aggressiveness of analyzed strains to tubers of different potato cultivars was found.

Among analyzed potato cultivars cv. Impala demonstrated the relatively less susceptibility to the infection with *F. sambucinum*, *F. stercicola*, and *F. vanettenii*, compared to the Gala and Red Lady. However, the inoculation of tubers of this cultivar with *F. mori* led to significantly larger necroses (34.7 ± 0.5 mm), than it was detected for two other cultivars (17.5 ± 1.0 mm, 8.1 ± 0.6 mm).

The obtained results open up prospects for screening the resistance of potato to *Fusarium* species causing dry rot of tubers, and the requirement to identify and deploy effective resistant genes in new varieties.

The study was supported by the Russian Science Foundation (project № 23-26-00105).



Systematic functional analysis of the TALEs of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* revealed potential susceptibility genes explored by the pathogen

H. Wei¹, Y. Yining², W. Zhunyu², G. Yuxuan², J. Xingwang², Z. Jie¹, Y. Yanhua²

¹ State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-bioresources, Nanning

² Guangxi University, Nanning

yuyanhua@gxu.edu.cn

Brassica genus contains diverse important agricultural crops. Black root disease on *Brassica* crops, which is among the most important disease on *Brassica*, is caused by *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (*Xcc*). Early genomic sequencing on the selected *Xcc* strains revealed no *tal* genes, and such bias in strain selection had led to the underestimate on the presence of *tal* genes in the genomes of *Xcc* and furthermore, the contribution of the TAL effectors (TALEs) to the pathogenicity of *Xcc*. A set of Chinese *Xcc* strains issued from diverse region and host were isolated previously, and the RFLP studies on *tal* genes revealed the abundance of the genes in the genomes of some *Xcc* isolates.

By systematically knocking out and cloning of the *tal* genes, multiple major TALEs were identified. Interestingly, the mutants affected in these *tal* genes showed not only reduced by also augmented virulence depending on the *Brassica* host inoculated. Functional analysis on these TALEs have been carried out to elucidate the mechanisms laying behind the phenotypic changes due to the mutagenesis. By combining the transcriptional analysis, quantitative proteomic analysis on the host inoculated with the *wt* strain and the mutants, several potential direct targets of the major TALEs were identified, the *in silico* target predictions revealed possible recognition sites in their promoter regions.

Our results revealed for the first time that the TALEs could act as both virulence and avirulence effector in the *Brassica*-*Xcc* interactions. Further functional analysis could provide deeper understanding on the susceptibility pathways of the *Brassica* hosts explored by the *Xcc* strains, and thus accelerate the breeding of broad spectrum *Xcc*-resistant germplasm.



***PWL1*, a G-type lectin receptor-like kinase, positively regulates leaf senescence and heat tolerance but negatively regulates resistance to *Xanthomonas oryzae* in rice**

Jiangmin Xu¹, Chunlian Wang¹, Fujun Wang², Yapei Liu¹, Man Li¹, Hongjie Wang¹, Yuhan Zheng¹, Kaijun Zhao¹, Zhiyuan Ji¹

¹ Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing, China ²Institute of Rice Research, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou, China

liuyapei@caas.cn

Plant leaf senescence, caused by multiple internal and environmental factors, has an important impact on agricultural production. The lectin receptor-like kinase (LecRLK) family members participate in plant development and responses to biotic and abiotic stresses, but their roles in regulating leaf senescence remain elusive. Here, we identify and characterize a rice *premature withered leaf 1* (*pwl1*) mutant, which exhibits premature leaf senescence throughout the plant life cycle. The *pwl1* mutant displayed withered and whitish leaf tips, decreased chlorophyll content, and accelerated chloroplast degradation. Map-based cloning revealed an amino acid substitution (Gly412Arg) in LOC_Os03g62180 (*PWL1*) was responsible for the phenotypes of *pwl1*. The expression of *PWL1* was detected in all tissues, but predominantly in tillering and mature leaves. *PWL1* encodes a G-type LecRLK with active kinase and autophosphorylation activities. *PWL1* is localized to the plasma membrane and can self-associate, mainly mediated by the plasminogen-apple-nematode (PAN) domain. Substitution of the PAN domain significantly diminished the self-interaction of *PWL1*. Moreover, the *pwl1* mutant showed enhanced reactive oxygen species (ROS) accumulation, cell death, and severe DNA fragmentation. RNA sequencing analysis revealed that *PWL1* was involved in the regulation of multiple biological processes, like carbon metabolism, ribosome, and peroxisome pathways. Meanwhile, interfering of biological processes induced by the *PWL1* mutation also enhanced heat sensitivity and resistance to bacterial blight and bacterial leaf streak with excessive accumulation of ROS and impaired chloroplast development in rice. Natural variation analysis indicated more variations in *indica* varieties, and the vast majority of *japonica* varieties harbour the *PWL1Hap1* allele. Together, our results suggest that *PWL1*, a member of LecRLKs, exerts multiple roles in regulating plant growth and development, heat-tolerance, and resistance to bacterial pathogens.



Сорта пшеницы и тритикале для органического сельского хозяйства на Юге РФ

И.Б. Аблова¹, Л.А. Беспалова¹, В.А. Филобок¹, А.Н. Боровик¹, О.Ю. Пузырная¹, В.Я. Ковтуненко¹,
А.А. Мудрова¹, Ю.Г. Левченко¹, Л.М. Мохова¹, А.С. Тархов¹

¹ ФГБНУ «НЦЗ им. П.П. Лукьяненко»

ablova@mail.ru

Во всем мире, в том числе и в России, сегодня стремятся перейти от интенсивного, «токсичного» земледелия, которое имеет разрушительные экологические последствия, к экологичному (Хлесткина, 2021). Экологическое земледелие — это метод ведения сельского хозяйства, который исключает применение пестицидов, химических удобрений, различных регуляторов роста растений.

Прежде чем внедрить технологии органического земледелия в сельскохозяйственное производство, необходимо провести тщательный фитосанитарный мониторинг, который включает: наблюдение за состоянием сельскохозяйственных культур, установление видового состава вредителей, динамику и сроки их развития, определение распространения и развития болезней, оценку засоренности агрофитоценоза. На посевах озимой пшеницы в южных регионах страны сложились свои специфические энтомо- и патоккомплексы, комплексы сорной растительности с широким родовым и видовым составом вредных организмов.

Важный элемент экологического земледелия в условиях множественных фитосанитарных рисков — выбор сортов, которые устойчивы и толерантны к группе болезней, которые вызываются автотрофами и особенно гемибиотрофами, не требуют химической защиты от них, хорошо конкурируют с сорняками, требуют меньше азота для формирования зерна высокого качества, т. е. с генетически детерминированным высоким качеством зерна, включенные в реестр «сильных» и «ценных» сортов. Для посева требуются высококачественные семена, отличающиеся высокими посевными достоинствами, свободными от семенной инфекции.

В отделе селекции и семеноводства пшеницы и тритикале НЦЗ им. П.П. Лукьяненко имеются серьезные наработки и инновационные решения для повышения эффективности и расширения производства органической продукции. Созданы сорта озимой мягкой пшеницы, которые в максимальной степени подходят для возделывания по технологиям экологического или биологизированного земледелия: Антонина, Велена, Вызов, Граф, Илиада, Классика, Таулан, Лео, Песня, Победа 75, Сварог, Уруп, Фёдор, Хамдан. Прежде всего они имеют высокий иммунный статус — проявляют резистентность одновременно к 5–6 болезням. Характеризуются экономным расходом ресурсов среды; в стрессовых условиях, в условиях с ярко выраженными лимитами среды являются конкурентно способными, с большими компенсаторными способностями. Имеют преимущества по урожайности при возделывании на фоне естественного плодородия, в поздние сроки сева.

Особо следует подчеркнуть значимость культуры тритикале для органического земледелия. Эта культура и сорта нового поколения (Тихон, Трудяга, Уллубий, Венец, Илия, Глеб, Пахарь и др.) характеризуются очень высокой устойчивостью к возбудителям твердой головни и не требуют предпосевного протравливания химическими препаратами, практически не поражаются вирусными болезнями, септориозной пятнистостью листьев, мучнистой росой и бурой ржавчиной. Растения тритикале с мощным листовым аппаратом отлично конкурируют с сорной растительностью, эффективно подавляют и угнетают ее своими корневыми выделениями, т. е. выступают в роли биологического гербицида.

Благодаря уникальной устойчивости к болезням и вредителям пшеницы полбы — вид пленчатой пшеницы (*Triticum dicocum*), ее новые сорта (Руно, Янтара, Здрава) пригодны для биологизированных технологий, не требуют пестицидных обработок при возделывании, что делает их отличным сырьем для производства экологически чистых продуктов для детского, диетического и геронтологического питания.



Использование маркер-ориентированной селекции и Speed Breeding для созданий форм с заданным аллельным составом у озимой мягкой пшеницы

М. Алкубеси^{1,2}, А.О. Блинков¹, М.Г. Дивашук^{1,2}

¹ ВНИИСБ, Москва

² РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва

malak94kifah@gmail.com

Маркер-ориентированная селекция (MAS) многократно доказало свою эффективность и выгоду при планировании родительских скрещиваний, беккроссировании и отборе индивидуальных растений из расщепляющейся популяции, где трудно проследить наследование отдельно взятого признака не имеющего фенотипического проявления [1]. В настоящее время ведётся большое количество работ по внедрению в селекционные процессы протокола Speed Breeding (SB), позволяющего получить полный цикл вегетации пшеницы за 2 месяца и быстро перейти к следующему поколению. Однако мало внимания уделяется комбинации подхода Speed Breeding с методами молекулярной генетики. В данной работе мы хотели бы поделиться опытом по интеграции технологии MAS и SB в селекции озимой мягкой пшеницы.

Одним из подходов является комплексное генотипирование коллекций для последующего подбора пар скрещиваний с использованием KASP-маркеров. В первую очередь оценивается аллельный состав таких генов, как *Glu*, *Ppd*, *Rht*, *Vrn*, а также 1B/1R-транслокация.

Вторым подходом является проведение скрещиваний и беккроссировании в условиях Speed Breeding. Каждое участвующее в скрещивании растение проходит генотипирование. Проводится это для того, чтобы не включать в последующую селекционную работу семена, полученные при браке кастрации и случайном попадании пыльцы с других растений. К тому же генотипы пшеницы в коллекциях обладают большой популятивностью по аллельному составу, которая не проявляется фенотипически.

Третий подход заключается в раскладывании гибридов F1–8 на линии. В условиях камеры ускоренного роста применяется односемянный отбор с параллельным генотипированием растений и отбором по искомому аллелю.

Таким образом, в настоящее время ведётся работа по созданию полностью *Waxy*-линий мягкой пшеницы, а также проведение дополнительных циклов выращивания расщепляющихся популяций для отбора линий с высокими хлебопекарными качествами.

1. *Acquaah G.* (2009) Principles of Plant Genetics and Breeding.

Исследование выполнено при финансовой поддержке государственного задания № FGUM-2022-0001.



Взаимосвязь устойчивости растений дикого вида картофеля *S. chacoense* к Y вирусу картофеля с наличием ДНК маркеров гена устойчивости *Ryhc*

А.Д. Антипов¹, Н.Е. Злобин¹, А.А. Гурина², Е.В. Рогозина²

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва

² Всероссийский институт растениеводства имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург

antipovdm37@gmail.com

Для семейства *Solanaceae*, и, в частности, для картофеля, самым опасным вирусным заболеванием на сегодняшний день можно считать Y вирус картофеля (YVK), заражение которым приводит к большой потере урожая. Одним из основных механизмов защиты растений картофеля от вирусных заболеваний можно считать механизм, основанный на генах устойчивости. Так, ген *Ryhc*, обнаруженный у дикого картофеля *S. chacoense*, является ценным геном для программ селекции картофеля, поскольку он придает экстремальную устойчивость к YVK. *Ryhc* был впервые введен в коммерческий сорт «Konafubuki» из удвоенного *S. chacoense* «w84» и был картирован на дистальном конце длинного плеча девятой хромосомы. В 2022 году группа китайских ученых сообщила о клонировании гена *Ryhc* в бактериальные искусственные хромосомы и путем скрининга клонов определила последовательность гена *Ryhc* и его принадлежность к группе LRR белков, а также предложила свой ДНК маркер, который направлен на последовательность самого гена [1]. Затем группа японских ученых также получила последовательность *Ryhc* и представила свой ДНК маркер, подтвердив ранее полученные данные о последовательности и расположении гена [2]. Примечательно, что в обеих работах была 100% корреляция между фенотипом и наличием маркера на ген *Ryhc*. Мы исследовали корреляцию между наличием опубликованных ДНК-маркеров и устойчивостью к YVK в большой выборке генотипов *S. chacoense*. В нашей работе была проведена оценка устойчивости растений *S. chacoense* (43 растения) к YVK путем механической инокуляции их соком инфицированного *Nicotiana tabacum* и дальнейшей идентификации вирусного поражения методом ИФА. Эта же выборка растений *S. chacoense* была проанализирована на наличие маркеров на ген *Ryhc* методом ПЦР. В результате было обнаружено, что у 6 растений отсутствовала корреляция между наличием маркера на ген устойчивости и самой устойчивости к YVK. Таким образом, было показано, что наличие ДНК маркеров на ген *Ryhc* у растений *S. chacoense* не дает 100% вероятности, что растение будет устойчиво к YVK. Отсутствие устойчивости при наличии маркерных фрагментов гена *Ryhc* дает основания полагать, что в неустойчивых генотипах могут содержаться нефункциональные аллельные варианты гена *Ryhc*. Для проверки этого предположения проведено секвенирование полных последовательностей гена *Ry* на платформе OxfordNanopore, которое выявило наличие полиморфизма.

- [1] Li G. et al. *Ryhc* confers extreme resistance to potato virus Y in potato // *Cells*. — 2022. — Т. 11. — № 16. — С. 2577.
[2] Akai K. et al. De novo genome assembly of the partial homozygous dihaploid potato identified PVY resistance gene (*Ryhc*) derived from *Solanum chacoense* // *Breeding Science*. — 2023. — Т. 73. — № 2. — С. 168–179.

Исследование поддержано проектом РНФ № 21-76-10050.



Изменения профиля экспрессии генов биосинтеза каротиноидов в ответ на холодовой стресс у образцов кукурузы *Zea mays*, контрастных по холодостойкости

Д.Х. Архестова¹, С.А. Брускин¹, А.В. Щенникова¹, Е.З. Кочиева¹

¹ ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия

khavpacheva.dzhenet@mail.ru

Кукуруза *Zea mays* L. — одна из ключевых зерновых и силосных культур, важной составляющей которой является содержание каротиноидов, особенно β -каротина как основного предшественника витамина А. Кроме пищевой/диетической ценности, содержание каротиноидов положительно ассоциировано с устойчивостью растений к абиотическим стрессам, включая воздействие пониженных температур.

Целью нашей работы стало определение генов пути биосинтеза каротиноидов, активность которых изменяется в ответ на холодовой стресс и которые, следовательно, могут быть использованы в качестве маркеров в селекции холодостойкой кукурузы.

Транскриптомный анализ был проведен на листовой ткани проростков двух образцов, контрастных по холодостойкости и различающихся суммарным содержанием каротиноидов: сорт Белоярое пшено (БП) (устойчив к холоду) и линия OL161зС МВ (неустойчива к холоду). Образцы были подвергнуты воздействию холода (12 ч, +3 °С; контроль — при +25 °С) и возврату в нормальные условия на сутки (+25 °С). Всего было 10 образцов по 2 биологических повтора (до стресса; 12 ч при +3° С и контроль 12 ч при +25 °С; 24 ч после возврата — опыт и контроль).

Была проведена аннотация и статистическая обработка данных секвенирования транскриптомов с поиском возможных дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ), как между образцами кукурузы, так и между различными точками отбора проб. В результате были обнаружены значительные изменения (как между контрастными образцами, так и между до- и послестрессовыми точками анализа) числа транскриптов генов, связанных с биосинтезом каротиноидов. Основные изменения коснулись генов PSY2 (хлоропласт-специфичная фитоинсинтаза, как главный лимитирующий синтез каротиноидов фермент), CrtB (бета-каротин-3-гидроксилаза как фермент, катализирующий синтез ксантофиллов лютеинового и виолаксантинового циклов) и NCED1 (9-цис-эпоксикаротиноиддиоксигеназа как фермент, катализирующий образование фитогормона АБК из ксантофиллов виолаксантинового цикла). Дифференциальная экспрессия данных ДЭГ была валидирована с помощью ПЦР в реальном времени на анализируемых образцах, а также на других инбредных линиях кукурузы, различающихся по содержанию каротиноидов и холодостойкости.

Работа выполнена при поддержке ФНТП развития сельского хозяйства РФ («Разработка современных молекулярно-генетических агробиотехнологий для получения конкурентноспособных гибридов кукурузы»).



Транскрипционный фактор *WOX2* в развитии корней и симбиотических клубеньков у люцерны *Medicago truncatula*

К.А. Баштовенко¹, Л.А. Лутова¹, М.А. Лебедева¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет
susya00@mail.ru

Транскрипционные факторы (ТФ) *WOX* (*WUSCHEL-RELATED HOMEOBOX*) играют ключевую роль в процессе роста и развития растений, формировании новых органов, участвуя в поддержании активности меристематических тканей и регулируя пролиферацию и дифференцировку клеток растения. Помимо этого, активность генов *WOX*, в частности гена *WOX5*, была показана нами ранее и в ходе развития симбиотических клубеньков у бобовых растений [2]. При анализе доступных транскриптомных нами также была выявлена экспрессия *WOX2*-подобного гена в азотфиксирующих клубеньках люцерны *Medicago truncatula*, образующихся при симбиозе с бактериями ризобиями. ТФ *WOX2* известен как один из ранних регуляторов эмбриогенеза у растений, участвующий в регуляции разметки апикального домена зародыша. *WOX2* оказывает влияние на баланс ключевых гормонов, ауксинов и цитокининов, в ходе раннего эмбриогенеза [1]. Однако роль ТФ *WOX2* в процессе развития симбиотических клубеньков у бобовых растений остается неизученной.

Наша работа посвящена исследованию роли ТФ *WOX2* в развитии клубеньков у *M. truncatula*. По нашим предварительным данным, ген *MtWOX2* активируется при инокуляции ризобиями и максимум его экспрессии наблюдается на 21 день после инокуляции. Также нами была создана репортерная конструкция *pMtWOX2:GUS*, с помощью которой мы выявили локализацию активности промотора *MtWOX2* в апикальной части симбиотических клубеньков. Кроме того, нами были получены растения со стабильной сверхэкспрессией гена *MtWOX2* (*p35S::MtWOX2*). Среди растений поколения T1 были отобраны семьи с высоким уровнем экспрессии гена *MtWOX2*. Растения *p35S::MtWOX2* характеризовались меньшей длиной корней, по сравнению с контрольными растениями родительской линии R108. Количество клубеньков не было снижено у растений *p35S::MtWOX2*, однако для таких растений было отмечено расположение клубеньков в виде кластеров. Анализ распределения гормонов у полученных растений позволит понять механизмы работы ТФ *WOX2* в ходе развития клубеньков. Результаты нашей работы расширяют представления о функциях ТФ *WOX2* у растений.

[1] Zhang Z. et al. *Developmental Cell*. 2017; 40(3):264–277.

[2] Osipova M. A. et al. *Plant physiology*. 2012; 158(3):1329–1341.

Исследования проведены при поддержке гранта Министерства образования РФ на создание научного центра мирового класса «Агротехнологии будущего» (соглашение № 075-15-2022-322 от 22.04.2022).



Проявление апомиксиса у линии зернового сорго АС-3

Е. В. Беляева¹, Л. А. Эльконин¹, А. А. Владимирова¹

¹ Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока, г. Саратов

belyaeva.vilena@gmail.com

Создание линий и гибридов возделываемых культур с апомиктичным размножением — проблема, привлекающая внимание многих поколений генетиков и селекционеров в связи с возможностью закрепления гетерозиса у гибридов F₁. С помощью отбора в потомстве мужски-стерильного гибрида сорго на завязываемость семян, частоту формирования апоспорических зародышевых мешков (ЗМ), партеногенетических зародышей (ПЗ) и появление растений материнского типа в тест-кроссах с линией Волжское-4в (В4в), гомозиготной по генам *Rs1*, определяющим красную окраску проростков, нами была создана линия АС-3, проявляющая способность к факультативному апомиксису. У разных растений линии АС-3 частота ЗМ с автономно развивающимися зародышами варьирует от 3.8% до 46.7%. Установлено, что с увеличением срока после начала цветения частота женских гаметофитов с ПЗ значительно возрастает, при этом способность к партеногенезу проявляется у каждого изученного растения линии АС-3. Реже отмечались случаи автономного эндоспермогенеза. В то же время у растений присутствовала фертильная пыльца, которая участвовала в оплодотворении, и в значительной части семяночек на 4–5 день после начала цветения формировались гибридные зародыши и эндосперм. Частота партеногенеза положительно коррелирует с высокой среднесуточной температурой воздуха в течение первых пяти из 10 дней до начала цветения ($r=0.75$; $p<0.01$). Генотипирование растений из потомства кастрированных метелок АС-3, опыленных пыльцой В4в, с использованием кодоминантных SSR-маркеров, которые дифференцировали линии АС-3 и В4в, выявило, что гибриды F₁, несущие ген *Rs1* (хромосома 6), обладали как отцовскими, так и материнскими аллелями маркеров *Sb1–10* (хромосома 4) и *Xtxp320* (хромосома 10), тогда как у растений материнского типа (*rs1rs1*) присутствовали только материнские аллели этих маркеров. В эндосперме зерновок, из которых были получены проростки материнского типа, присутствовали только материнские аллели, тогда как в эндосперме зерновок, из которых были получены гибридные проростки, наблюдались как отцовские, так и материнские аллели. Выявлено, что способность к формированию ПЗ передается гибридам F₁. Полученные данные свидетельствуют о наличии компонентов апомиксиса у линии сорго АС-3, а также об эффективности отбора на апомиксис у функционально диплоидных видов возделываемых культур.



Методика создания высокоурожайных сортов арахиса (*Arachis hypogaea* L.)

В.Д. Бемова¹, В.А. Гаврилова¹, Н.В. Кишлян¹, Т.В. Якушева², Л.Ю. Новикова¹

¹ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, г. Санкт-Петербург

² Кубанская опытная станция — филиал Федерального исследовательского центра Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, с. Ботаника

viktoria.bemova@yandex.ru

Арахис обыкновенный (*Arachis hypogaea* L.) — однолетнее травянистое растение из семейства бобовых (Fabaceae). Показано, что арахис можно успешно выращивать на юге России, однако на данный момент в Госреестре зарегистрировано всего 3 сорта арахиса, а селекционная работа почти не проводится. В то же время РФ является крупнейшим импортером арахиса [1]. Необходимо создание новых сортов с высокими продуктивностью, вызреваемостью и стабильным проявлением этих признаков в разных экологических условиях. Трехлетнее эколого-географическое испытание 30 образцов арахиса коллекции ВИР, различающихся по происхождению и комплексу биологических признаков в двух точках: на Кубанской опытной станции — филиал ВИР и в Прикаспийском научно-исследовательском институте аридного земледелия, позволило выявить перспективные генотипы в качестве исходного материала для селекции. Для оценки стабильности образцов применяли стандартное отклонение, коэффициент вариации и коэффициент регрессии на условия среды по Эберхарту и Расселу [2], в результате были выявлены стабильные и пластичные генотипы [3]. Последние пригодны для создания сортов, способных показывать высокие характеристики в разных условиях среды. С использованием двухфакторного дисперсионного анализа установлено, что отбор следует проводить по признаку массы 1000 семян, как самому стабильному [4]. В результате исследований было отобрано пять предсортов, характеризующиеся высокой стабильностью проявления хозяйственно-ценных признаков в исследуемых условиях.

- [3] Туз Р. К., Подольная Л. П., Асфандиярова М. Ш., Дубовская А. Г., Еремин В. А., Мигачева Е. О. Изменчивость образцов арахиса селекции ВНИИМК в условиях Астраханской области // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень ВНИИМК. 2018. Т. 176, № 4. С. 64–67. DOI: 10.25230/2412-608X-2018-3-175-64-67
- [4] Eberhart S. A., Russel W. A. Stability parameters for comparing varieties // Crop Science. 1966. Vol. 6. P. 36–40. DOI: 10.2135/cropsci1966.0011183X000600010011x.
- [5] Бемова В. Д., Якушева Т. В., Асфандиярова М. Ш., Гаврилова В. А., Кишлян Н. В., Новикова Л. Ю. Изменчивость продуктивности образцов арахиса (*Arachis hypogaea* L.) при эколого-географическом испытании // Экологическая генетика. — 2023. — Т. 22, № 2. — 155–165. DOI: 10.17816/ecogen340801.
- [6] Бемова В. Д., Асфандиярова М. Ш., Якушева Т. В., Гаврилова В. А., Кишлян Н. В. Эколого-географическое изучение образцов арахиса коллекции ВИР // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2023;184(3):79–89. DOI: 10.30901/2227-8834-2023-3-79-89.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках соглашения № 075-15-2020-922 от 16.11.2020 на создание и развитие Научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».

Исследования проведены при поддержке гранта Министерства образования РФ на создание научного центра мирового класса «Агротехнологии будущего» (соглашение № 075-15-2022-322 от 22.04.2022).



Изучение коллекции растений пшеницы с мутациями в промоторной области гена *PPD-1*

А.А. Бережная¹, А.А. Киселева^{1,2}, А.Э. Коложвари¹, Е.А. Салина^{1,2}

¹ ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН», Новосибирск

² Курчатowski геномный центр, Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

BerezhnayaAA@bionet.nsc.ru

Время колошения культурных растений является одним из главных факторов, определяющих их приспособленность к окружающей среде, что, в свою очередь, влияет и на урожайность культур. В Курчатowski геномный центре ИГиГ СО РАН на основе сорта яровой мягкой пшеницы Велют с помощью геномного редактирования CRISPR/Cas9 была получена коллекция растений с мутациями в промоторной области генов *PPD-1*. Эти гены определяют чувствительность к фотопериоду, а изменение их работы может приводить к более раннему цветению.

Целью данной работы было изучение коллекции мутантных растений, описание полученных мутаций и выявление связанных с ними изменений в работе генов *PPD-1*. Из 1470 зародышей, подвергшихся трансформации при помощи генной пушки, было получено 193 регенеранта. Скрининг проводился методом ПЦР со специфичными праймерами к промоторным областям генов *Ppd-B1* и *Ppd-D1*, а также к последовательности трансформационного вектора для выявления его встройки в геном. Более детальное изучение мутаций проводилось с использованием секвенирования по Сэнгеру и NGS.

Из 142 проанализированных растений 54 (38%) несут мутации хотя бы в одном целевом гене. Большинство мутаций в целевом районе промотора представлены делециями, длина которых варьирует от нескольких нуклеотидов до сотен нуклеотидов. Были получены мутантные генотипы в гетеро-, би-, гомозиготном состоянии. Семена растений с различными мутациями в промоторе были отобраны и высажены в теплице в условиях длинного светового дня, проведена оценка фенотипа (первый узел и время колошения). В условиях теплицы было показано, что у линий с делециями в промоторе *Ppd-D1* колошение наступает значительно раньше, чем у контрольной линии без делеций. Разница во времени колошения составила в среднем 2.3 дня ($p < 0.001$). При этом растения как с короткими, так и с длинными делециями в промоторе выколашивались раньше, чем растения с аллелем дикого типа.

Данная работа выполнена при поддержке Курчатowski геномного центра ИГиГ СО РАН (№ 21-76-30003).



Изменения в антиоксидантной системе побегов пшеницы сорта «Курьер» при экзогенной обработке новым препаратом «Агрокор»

З.А. Бережнева¹, Х.Г. Мусин¹, А.А. Березин², Б.Р. Кулуев¹

¹ Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН

² ФГБУ ВО «Уфимский университет науки и технологий»

berezhneva-z@yandex.ru

Применение биопрепаратов — это перспективное направление повышения урожайности сельскохозяйственных культур. Их использование оказывает влияние на физиологические и ростовые процессы, увеличивает устойчивость к стрессовым факторам, однако эффективность действия биопрепаратов зависит от многих факторов. Также устойчивость растительного организма к влиянию различных абиотических стресс-факторов определяется изменениями в антиоксидантной системе. Цель работы: оценить влияние нового рост-стимулирующего препарата «Агрокор» на показатели антиоксидантной системы в побегах яровой мягкой пшеницы сорта «Курьер» в сравнении с известными препаратами «Гуми» и «Янтарная кислота». 8-дневные побеги пшеницы были обработаны путем опрыскивания листьев следующими биопрепаратами: «Агрокор» в концентрациях 10 мл/л и 2 мл/л; «Гуми» в концентрации 7,5 мл/л; «Янтарная кислота» в концентрации 1 г/л; в качестве контроля обработку проводили эквивалентным количеством дистиллированной воды. Обработку биопрепаратами проводили трижды на 1, 7 и 21 сутки от начала постановки эксперимента. Через 7 недель, после завершения эксперимента, образцы побегов были заморожены на $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ в пластиковых микропробирках по 100 мг ткани в 6 повторностях, которые в дальнейшем были использованы для биохимического анализа компонентов антиоксидантной системы. Общая антиоксидантная способность у растений пшеницы, обработанных «Агрокором» в концентрации 10 мл/л, была наиболее высокой среди всех исследуемых вариантов. Содержание пролина и активность супероксиддисмутазы в побегах всех растений, обработанных исследуемыми биопрепаратами, было выше по сравнению с контролем. Активность каталазы была выше по сравнению с контролем у растений, обработанных препаратами «Гуми», «Янтарная кислота» и «Агрокор» в концентрации 10 мл/л. Содержание водорастворимых сахаров было выше в побегах пшеницы, обработанных препаратами «Гуми» и «Агрокор» в концентрации 2 мл/л. Содержание малонового диальдегида было наиболее низкой в побегах, обработанных «Агрокором» в обеих концентрациях по сравнению с контролем. Таким образом, новый биопрепарат «Агрокор» улучшает показатели антиоксидантной системы, такие как содержание пролина и водорастворимых сахаров, активность супероксиддисмутазы и каталазы, и общая антиоксидантная способность, а также уменьшает содержание малонового диальдегида, что делает данный препарат перспективным для использования в сельском хозяйстве.



Поиск генетической устойчивости к мучнистой росе у образцов тыквенных культур коллекции ВИР и форм собственной селекции Крымской ОСС ВИР

Ф.А. Беренсен¹, С.В. Кузьмин², Т.М. Пискунова¹, О.Ю. Антонова¹

¹ ФИЦ «Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» (ВИР), Санкт-Петербург

² Крымская опытно-селекционная станция – филиал ФИЦ «Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» (Крымская ОСС филиал ВИР)

fberensen@gmail.com

Кабачок *Cucurbita pepo* var. *giraumonts* Duch. и патиссон *Cucurbita pepo* var. *melopepo* L. — широко выращиваемые тыквенные культуры на территории Российской Федерации и за рубежом. Одной из основных болезней тыквенных культур в открытом грунте на данный момент является мучнистая роса. Заболевание, в основном вызываемое двумя видами гриба *Podosphaera xanthii* (Castagne) U. Braun & Shishkoff и *Golovinomyces cichoracearum* (DC.) V. P. Heluta [1], приводит к значительным потерям урожайности и может снижать качество товарной продукции.

Наиболее экономически выгодным и экологичным методом борьбы с заболеванием представляется поиск генетически устойчивых сортов. Исходно вид *C. pepo* был представлен исключительно сортами, восприимчивыми к мучнистой росе. В 80-х годах XX века в *C. pepo* через виды-посредники был передан генетический материал диких видов, обеспечивающий устойчивость к мучнистой росе; в геноме культурных видов данная интрогрессия получила название *Pm-0* [2]. В дальнейшем, в 2016 году, с использованием метода GBS (Genotyping-by-sequencing), регион *Pm-0* был локализован в группе сцепления 10 в области размером 76,4 т. п. н., и были разработаны два CAPS-маркера [3], рекомендованные для использования в маркер-вспомогательном отборе. Основной внутригенный CAPS-маркер NBS_S9_1495924/*Hae*III разработан для гена-кандидата, кодирующего белок структуры NBS-LRR, дополнительно был создан маркер S9_1539675/*Msp*I, косегрегирующий с устойчивостью к мучнистой росе.

Нами была изучена выборка кабачка и патиссона, состоящая из 82 образцов коллекции ВИР и 28 форм селекции КОСС ВИР. Проведен молекулярный скрининг выборки с обоими CAPS-маркерами региона *Pm-0*. Изучение устойчивости к мучнистой росе данных образцов проводили на естественном инфекционном фоне в период массового распространения болезни в Краснодарском крае и Северо-Западном регионе РФ согласно методике ВИР [4]. В результате были выявлены 28 образцов, несущих диагностические фрагменты обоих CAPS-маркеров и 36 образцов только с одним из маркеров. Данные молекулярного скрининга и полевой оценки устойчивости были соотнесены с целью выявления устойчивых образцов, имеющих молекулярные маркеры региона *Pm-0*.

Большинство образцов гетерогенны по изучаемому признаку, и наше исследование позволило отобрать в устойчивых образцах растения, несущие оба молекулярных маркера. Такие растения были подвергнуты самоопылению, что позволило сохранить ценные генотипы с интрогрессией *Pm-0* в коллекции ВИР.

- [1] Lebeda A., Kristkova E., et al. New concept for determination and denomination of pathotypes and races of cucurbit powdery mildew. In: IXth EUCARPIA Meeting on Genetics and Breeding of Cucurbitaceae; 2008. P. 125–134.
- [2] Cohen R., Hanan A., Paris H. Single-gene resistance to powdery mildew in zucchini squash (*C. pepo*) // Euphytica. 2003. N130. P. 433–441. doi: 10.1023/A:1023082612420.
- [3] Holdsworth W., LaPlant K., et al. Cultivar-based introgression mapping reveals wild species-derived *Pm-0*, the major powdery mildew resistance locus in squash // PLoS ONE. 2016. Vol. 11, N12. P. e0167715. doi: 10.1371/journal.pone.0167715.
- [4] Пискунова Т. М. Изучение и поддержание в живом виде мировой коллекции тыквы, кабачка, патиссона, крукнека: (методические указания). СПб: ВИР, 2020. doi: 10.30901/978–5–907145–21–4.



Фенотипические и генотипические особенности линий зернового сорго, несущих генетическую конструкцию для РНК-сайленсинга гена γ -кафирина

Н. В. Борисенко¹, Л. А. Эльконин¹, Т. Е. Пылаев², С. Х. Сарсенова¹, В. М. Панин¹

¹ Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока, г. Саратов

² Саратовский Государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского, Саратов

borisenko-n.v@yandex.ru

Исследовали генетическую изменчивость в потомстве мутанта зернового сорго (сорт Аванс), несущего генетическую конструкцию для РНК-сайленсинга гена γ -кафирина, полученного нами ранее посредством агробактериальной трансформации. Установлено, что генетическая конструкция присутствует у растений из поколения T_4 в количестве 3–4 копий (две независимые инсерции Т-ДНК). Вместе с тем, зарегистрированы случаи элиминации генетической конструкции, при этом ее фрагмент, несущий маркерный ген *bar*, сохранялся в геноме растений T_4 . Растения, несущие конструкцию для РНК-сайленсинга, имели модифицированный тип эндосперма (полностью мучнистый, либо с тонким, нередко «размытым» стекловидным слоем), улучшенную перевариваемость белков зерна пепсином в системе *in vitro* (до 85–89%, в сравнении с 52–59% у сорта Аванс) и повышенное процентное содержание лизина (на 75%). Элиминация конструкции сопровождалась реверсией типа эндосперма (толстым стекловидным слоем) и ухудшением перевариваемости белков. Выявлены гомозиготные линии с разным числом копий конструкции, и показано, что число копий не влияет на уровень перевариваемости. Растения всех трансгенных линий, содержащих конструкцию для РНК-сайленсинга, а также с её делецией, отличались от исходного сорта снижением высоты, массы 1000 зерен, урожая зерна с метелки и, у некоторых растений с 4 копиями конструкции, содержания белка (до 8.8–11.5%, по сравнению с 12.5% у сорта Аванс). Вместе с тем выявлены линии T_4 , у которых, несмотря на снижение урожайности, благодаря улучшенной перевариваемости кафиринов, сбор перевариваемого протеина вырос (на 8%). Установлено, что конструкция для РНК-сайленсинга наследуется при гибридизации, улучшая перевариваемость белков зерна у гибридов; в F_2 выделены рекомбинанты, сочетающие высокое содержание белка (13.9%) с высокой перевариваемостью (до 85–92%). Гибрид F_1 ЦМС-линии А2 КВВ-181 с одной из мутантных линий дал более высокий сбор перевариваемого протеина (на 22.7%), по сравнению с нетрансгенным гибридом А2 КВВ-181/Аванс. Дальнейшее исследование полученных мутантных линий и вовлечение их в гибридизацию может принципиально улучшить генофонд зернового сорго.



Северокавказский и Нижневолжский ареал Эгилопса цилиндрического (*Aegilops cylindrica*) как важный фактор эволюции пшеницы

А. Н. Боровик¹

¹ ФГБНУ «Национальный центр зерна им. П. П. Лукьяненко»

alex-borovik@mail.ru

Северо-Кавказский регион РФ находится в непосредственной близости от Переднеазиатского центра происхождения культурных растений, откуда ведёт свое начало главная продовольственная культура — пшеница. Несмотря на наличие огромного аллополиплоидного ряда диких сородичей пшеницы — эгилопсов, на Северном Кавказе и Нижнем Поволжье наибольшее распространение получил лишь один из них — эгилопс цилиндрический, тетраплоидный вид с геномной формулой CD. Это злаковый сорняк, растущий повсеместно на полях пшеницы, особенно при применении no-till технологий. Впервые мы обратили на него внимание в экологических условиях степи Калмыкии, где селекционный материал озимой пшеницы нашего отдела успешно тестируется по устойчивости к абиотическим и эдафическим лимитам среды. Пшеница здесь в условиях полупустыни испытывает стрессовые воздействия и визуально очень угнетена, в то же время заросли эгилопса цилиндрического на обочинах дорог чувствуют себя превосходно, представленные очень широким разновидностным разнообразием: растениями с белым и окрашенным, опушенным и неопушенным колосом и так далее, что свидетельствует о близости данных территорий к центру происхождения и генетического разнообразия этого дикого родича пшеницы. Многовековая эволюция в очень жестких аридных условиях Нижнего Поволжья способствовала накоплению и аккумуляции в аборигенной популяции *A. cylindrica* пула генов, обеспечивающих адаптивность. Первое тестирование растений эгилопсов калмыцкой популяции, при искусственном промораживании на самых жестких режимах (минус 21–22 °С), подтвердило их очень высокую морозостойкость. Тестовые скрещивания с современными сортами озимой мягкой пшеницы выявили высокую завязываемость всхожих гибридных семян. У гибридов F1 проявлялся вегетативный гетерозис, и доминировали дикие признаки: длинный, рыхлый, окрашенный колос с очень жесткими, деревянистыми чешуями. Гибриды первого поколения цвели открыто и проявляли высокую стерильность. От ветроопыления завязывались единичные зерна, в среднем одно на 10–15 колосьев. В следующих поколениях гибрида процент фертильности увеличивался. После десяти лет работы (беккроссирования пшеницей, отборов) нами получен ценный селекционный материал озимой пшеницы с участием гермоплазмы эгилопса цилиндрического калмыцкого ареала.

В наше время на полях Северокавказского региона отмечается массовое засорение посевов пшеницы эгилопсом цилиндрическим, особенно там, где применяются элементы минимальной обработки почвы. Анализируя эти сорные растения, мы в значительном количестве идентифицируем спонтанные, различных поколений и фертильности межродовые гибриды пшеницы и эгилопса. Эти растения превосходят эгилопс по высоте, имеют более крупный, низкофертильный, выделяющийся цветом на фоне белых колосьев пшеницы колос, с редкими вымолачивающимися зернами, не отличимыми от пшеничных. Это явление в настоящее время носит массовый характер, и поэтому дрейф генов при спонтанной гибридизации пшеницы и эгилопса мог быть и, по-видимому, являлся важным фактором изменчивости и эволюции пшеницы.



Использование РНК-аптамеров для ингибирования действия факторов вирулентности патогенов растений

И.А. Абдеева¹, Л.Г. Малошенко¹, С.А. Брускин¹

¹ ИОГен РАН, Москва

brouskin@vigg.ru

Известно, что для заражения растения-хозяина фитопатогенные бактерии преодолевают как первичный (PTI-Pathogen-Triggered Immunity), так и индуцированный (ETI-Effector-Triggered Immunity) иммунитет. Чтобы обойти PTI растений, бактериальные клетки используют эффекторный белки (Avr-белки или факторы вирулентности), которые доставляются в клетки растений-хозяев с помощью бактериальной транспортной системы III типа (TTS). Пример тому — инфекция *P.syringae*, где белки Hop подавляют PTI через несколько различных механизмов. Более того, известно, что при инфицировании клеток растений-хозяев эффекторными белками, секретируемыми бактериальной транспортной системой III типа (TTS), запускаются процессы, позволяющие патогену манипулировать внеклеточной и внутриклеточной средой растения-хозяина.

В последние годы были идентифицированы функции нескольких эффекторных белков, в частности, охарактеризован механизм эффекторного действия HopU1 *P.syringae* и показано, что белок HopU1 может подавлять врожденные иммунные реакции растения. Было обнаружено, что HopU1 представляет собой активную моноАДФрибозилтрансферазу и воздействует как минимум на два богатых глицином РНК-связывающих белка (GRRBP), GRP7 и GRP8, которые играют положительную роль в иммунитете растений, тем самым подавляя реакцию растения на инфекцию.

Аптамеры — это нуклеиновые кислоты, которые представляют собой небольшие фрагменты молекул ДНК или РНК, специфически связывающиеся с мишенями. Аптамеры можно получить с помощью технологии SELEX (систематическая эволюция лигандов путем экспоненциального обогащения). Аптамеры могут подавлять активность белков, связываясь с ними в функционально критических сайтах. Чтобы устранить потенциальные недостатки использования РНК-подобных молекул, которые часто нестабильны и подвержены деградации, мы создали эндогенно экспрессируемые аптамеры, которые транскрибируются растительной клеткой в течение всей жизни, что позволяет растительным клеткам-хозяевам поддерживать постоянную концентрацию РНК-аптамеров в цитоплазме. Основным показателем специфичности взаимодействия аптамера с мишенью является количественная оценка константы диссоциации комплекса (Kd), то есть определение сродства аптамера к мишени. Измерение Kd проводили методом MST (микромасштабный термофорез). Всего мы создали два РНК-аптамера Н1 и Н2 с константами диссоциации $6.71 \text{ нМ} \pm 0.69$ и $6.41 \text{ нМ} \pm 0.48$, соответственно.

Для оценки эффективности действия РНК-аптамеров на белок-мишень были получены трансгенные растения *A. thaliana*, конститутивно экспрессирующие созданные аптамеры под контролем 35S промотора. Полученные трансгенные растения имели фенотип, аналогичный контрольным растениям *Arabidopsis thaliana* дикого типа. Было обнаружено, что в течение первых 24 часов не было существенных различий в развитии инфекции дикого типа *P.syringae* между трансгенными линиями и контрольными растениями, однако на более поздних стадиях рост популяции возбудителя у контрольных растений значительно увеличился. Такие наблюдения могли быть вызваны тем, что на первых этапах развития инфекции происходит увеличение массы бактериальных клеток за счет колонизации апопласта, и только при достижении определенной плотности популяции происходит инвазия в клетку растения-хозяина. Заражение мутантным штаммом *P.syringae* ΔhopU1 не выявило существенной разницы в скорости заражения между растениями Н1, Н2 и контрольными растениями.

Таким образом, в настоящей работе мы показали, что созданные нами мРНК-аптамеры подавляют функции белка-мишени HopU1, а трансгенные растения *A.thaliana*, конститутивно экспрессирующие созданные аптамеры, обладают повышенной устойчивостью к фитопатогенам *P.syringae* pv. *tomato* DC 3000.



Поиск белковых комплексов, стимулирующих регенерацию у *Medicago truncatula*

А.В. Брынчикова¹, В.Ю. Симонова¹, Э.А. Поценкова¹, В.Е. Творогова², Л.А. Лутова²

¹ Научно-технологический университет «Сириус»

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

annbv19@gmail.com

В настоящее время соматический эмбриогенез используется при трансформации растений, ускоренном размножении и ускоренной селекции. Особое влияние на него оказывают белки семейства WOX, которые вовлечены в процессы роста и развития растения. Белки комплекса NF-Y также участвуют в регуляции соматического эмбриогенеза. NF-Y — это транскрипционный фактор, который содержит в себе субъединицы А, В и С, являясь гетеротримером. Ранее мы показали, что белок MtWOX9-1, стимулирующий соматический эмбриогенез у *Medicago truncatula*, способен взаимодействовать с некоторыми белками субъединиц NF-Y. Наша цель — поиск белковых комплексов, стимулирующих регенерацию у *Medicago truncatula*, среди белков семейств WOX и NF-Y.

На данном этапе исследования происходит создание конструкций для коэкспрессии гена *MtWOX9-1* и различных генов *NF-Y*. Мы планируем оценить способность таких конструкций стимулировать соматический эмбриогенез у *M. truncatula* и других бобовых.

Исследование было поддержано проектом научно-технологического университета «Сириус»: РВВ-РND-2243.



Кольцевые РНК – еще один уровень регуляции генов растений

С. А. Бурсаков¹, А. В. Князев¹, П. Ю. Круппин¹, М. Г. Дивашук¹

¹ Федеральное Государственное Бюджетное Научное Учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ ВНИИСБ), Москва

sergeymoscu@gmail.com

В связи с появлением большого объема информации по биогенезу и функциональности кольцевых РНК интерес к их идентификации и характеристике у растений стабильно растет и становится актуальной темой исследований. Экспрессия кольцевых РНК обычно специфична для типа клеток, ткани и стадии развития, а также индуцируема стрессом, что указывает на их потенциальную важность как регуляторов различных биологических процессов у растений и животных, представляя собой новый, еще один уровень посттранскрипционной регуляции генов. Помимо этого, были получены доказательства кодирования белков некоторыми эндогенными некодирующими РНК [1]. Новый класс некодирующих РНК, кольцевые РНК, могут играть важную и разнообразную функциональную роль в ответ на биотические и абиотические стрессы у растений [2]. Изменения в экспрессии кольцевых РНК обнаружены в связи с различными стрессовыми биотическими и абиотическими условиями, такими, как реакция на внесение микроэлементов [3], недостаточность обеспечения фосфором, световой и холодовой стресс, недостаточность или избыток влаги, поражение различными вредителями. Большой объем информации находит отражение во множественных базах данных, посвященных кольцевым РНК [4]. Выяснение и понимание функциональных ролей кольцевых РНК в развитии растений, реакции на биотические и абиотические стрессы, а также трансляции, являются основной темой развития знаний о растительных кольцевых РНК, а также об их отличии от животных. Однако, несмотря на большой интерес к кодирующему потенциалу растительных кольцевых РНК, их роль и функции до сих пор мало изучены. Результаты наших исследований научной литературы о растительных кольцевых РНК является обобщение новых достижений в области регуляции экспрессии генов сои как стратегически важной культуры с вовлечением кольцевых РНК и определением возможностей использования полученных знаний о них для регуляции устойчивости сои к стрессовым абиотическим воздействиям окружающей среды, включая ускоренное выращивание в условиях speed breeding.

- [1] Fesenko, I., Shabalina, S. A., Mamaeva, A., Knyazev, A., Glushkevich, A., Lyapina, I., Ziganshin, R., Kovalchuk, S., Kharlampieva, D., Lazarev, V., Taliansky, M., Koonin E. V. (2021) A vast pool of lineage-specific microproteins encoded by long non-coding RNAs in plants. *Nucl. Acids Res.*, 49(18), pp. 10328–10346. doi: 10.1093/nar/gkab816
- [2] Cadavid IC, Balbinott N, Margis R. (2023) Beyond transcription factors: more regulatory layers affecting soybean gene expression under abiotic stress. *Genet Mol Biol.* 46(1 Suppl 1): e20220166. doi: 10.1590/1678-4685-GMB-2022-0166.
- [3] Bursakov, S. A., Kroupin, P. Y., Karlov, G. I., & Divashuk, M. G. (2023). Tracing the Element: The Molecular Bases of Molybdenum Homeostasis in Legumes. *Agronomy*, 13(9), 2300. doi: 10.3390/agronomy13092300
- [4] Zheng, Yu., Luo, H., Teng, X., Hao, X., Yan, X., Tang, Y., Zhang, W., Wang, Y., Zhang, P., Li, Y., Zhao, Yi., Chen, R., He S. (2023) NPInter v5.0: ncRNA interaction database in a new era. *Nucl. Acids Res.*, 51(D1), pp. D232-D239. doi: 10.1093/nar/gkac1002

Исследование выполнено при поддержке Государственного задания ФГУМ-2022–0007.



Определение аллельного состояния гена *Psy1-A1* в селекционных образцах озимой твёрдой пшеницы

Н.Н. Вожжова¹

¹ ФГБНУ «АНЦ «Донской», г. Зерноград
nvozhzh@gmail.com

Для решения селекционной задачи по улучшению цветности зерна и крупки озимой твёрдой пшеницы необходимо исследование гена *Psy1-A1*, влияющего на синтез каротиноидов. В результате анализа 48 образцов озимой твёрдой пшеницы из коллекции ФГБНУ «АНЦ «Донской» было выявлено 30 образцов с аллелем *Psy1-A1a*, 16 образцов с аллелем *Psy1-A1c* и 2 образца с гетерозиготным аллельным состоянием — *Psy1-A1a/c+Psy1-A1b*. Для создания сортов с высоким уровнем качества рекомендуется использование в селекционном процессе образцов, несущих аллель *Psy1-A1a*.

Одной из селекционных задач по улучшению качества озимой твёрдой пшеницы является создание сортов с высоким индексом цветности. На индекс оказывают влияние каротиноиды, которые зависят от синтеза ферментов, участвующих в их формировании. Одним из главных генов, которые контролируют синтез фитоинсинтазы, ключевого фермента для образования каротиноидов, является ген *Psy1-A1*. За рубежом были подобраны молекулярные маркеры, различающие аллельное состояние гена *Psy1-A1*. Для исследованной популяции выявленные аллели были проассоциированы с признаком «содержание каротиноидов» и установлено, что *Psy1-A1a* связан с высоким содержанием фитоинсинтазы, *Psy1-A1c* — с повышенным содержанием, а *Psy1-A1b* — с пониженным содержанием фермента (He et al., 2008).

В коллекционных и селекционных образцах озимой твёрдой пшеницы селекции ФГБНУ «АНЦ «Донской» ранее не определялось наличие аллелей гена *Psy1-A1*, чем и был обусловлен выбор данной цели исследования.

Объектом исследования являлись 48 образцов озимой твёрдой пшеницы из коллекции отдела селекции озимой пшеницы ФГБНУ «АНЦ «Донской». Выделение ДНК производилось методом СТАВ с модификациями (Murray & Thompson, 1980). Для определения аллелей гена *Psy1-A1* использовались кодоминантные STS-маркеры YP7A и YP7A-2 (He et al., 2008).

В результате проведенных анализов 48 образцов озимой твёрдой пшеницы, было выявлено различное аллельное состояние гена *Psy1-A1*. Оценки по каждому маркеру сравнивались между собой для точного определения аллелей.

У 30 образцов озимой твёрдой пшеницы было установлено наличие аллеля *Psy1-A1a* (561/18, 971/19, 1174/19, 901/20, 939/20 и др.). Аллель *Psy1-A1c* был выявлен у 16 образцов (903/17, 1037/17, 258/18, 536/19, 1048/19 и др.). У 2 образцов 951/18 и 535/20 определено гетерозиготное аллельное состояние — маркером YP7A найдены аллели *Psy1-A1a/c* и *Psy1-A1b*, а маркером YP7A-2 идентифицированы ампликоны нетипичного размера — около 1200 п. н., что требует дальнейших исследований.

Поскольку аллель *Psy1-A1a* ассоциирован с повышенным содержанием фитоинсинтазы, влияющей на синтез каротиноидов, а значит в дальнейшем и на цветность крупки и зерна озимой твёрдой пшеницы, рекомендуется использование образцов с ним в дальнейшем селекционном процессе по улучшению качественных свойств новых сортов.

1. He X. Y., Zhang Y. L., He Z. H., Wu Y. P., Xiao Y. G., Ma C. X., Xia X. C. Characterization of phytoene synthase 1 gene (*Psy1*) located on common wheat chromosome 7A and development of a functional marker // *Theoretical and Applied Genetics*. 2008. Vol. 116, № 2. P. 213–221. DOI: 10.1007/s00122–007–0660–8
2. Murray M. G., Thompson W. F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA // *Nucleic Acids Res.* 1980. Vol. 8, № 19. P. 4321–4325. DOI: 10.1093/nar/8.19.4321



Характеристика образцов коллекции ВИР по аллельному составу генов *Rht-B1* и *Rht-D1*

К.А. Волков¹, И.В. Поротников¹, Е.В. Зуев¹, О.А. Ляпунова¹, О.Ю. Антонова¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова», Санкт-Петербург

kirill48151@mail.ru

Пшеница является основной продовольственной культурой, которая занимает первое место по площади посевов и третье по величине собранного урожая (FAO, 2021). Высокая урожайность пшеницы во многом обеспечивается использованием устойчивых к полеганию короткостебельных сортов. У пшеницы и ее сородичей выявлено не менее 26 генов семейства *Rht* (*Reduced height*), влияющих на высоту растений (McIntosh et al., 2018); каждый из генов может быть представлен большим количеством аллелей. Недавно в ВИР была разработана система ДНК-маркеров для детекции основных аллелей наиболее часто используемых в селекции генов *Rht-B1* и *Rht-D1* (Porotnikov et al., 2022). Система включает оригинальные CAPS и dCAPS-маркеры для детекции нонсенс-мутаций (*Rht-B1b*, *Rht-B1e* и *Rht-D1b*) а также привлеченные из литературы InDel-маркеры аллелей, связанных с инсерциями (*Rht-B1c*, *Rht-B1h*, *Rht-B1-i1*). Мы применили эту систему для анализа образцов из коллекции пшеницы ВИР.

Образцы для анализа — 115 твердой и 209 мягкой пшеницы (всего 324 образца) — были отобраны по признаку короткостебельности на основании многолетних наблюдений. Контролями служили сорта с известными аллелями генов *Rht-B1* и *Rht-D1* (Porotnikov et al., 2022).

В изученной выборке твердой пшеницы наиболее часто (37,4%) встречался аллель *Rht-B1b*. Также были выявлены образцы с аллелями *Rht-B1e* (4,35%) и *Rht-B1h* (5,22%). У мягкой пшеницы самым распространенным (34,45%) оказался аллель *Rht-D1b*, также значительную часть выборки составили образцы с нонсенс-мутацией *Rht-B1b* (11,96%) и инсерциями в регуляторных областях *Rht-B1i1* (11,48%) и *Rht-B1h* (6,7%). Единичные образцы содержали аллель *Rht-B1e* (3,83%), аллель *Rht-B1c* в изученной выборке отсутствовал. У остальных образцов анализируемые аллели выявлены не были, то есть их короткостебельность связана с действием других генов.

Таким образом, коллекция короткостебельных образцов пшеницы была структурирована по аллельному составу генов *Rht-B1* и *Rht-D1*, и были выявлены образцы, перспективные для поиска других генов короткостебельности.

1. McIntosh R. A., Dubcovsky J., Rogers W. J., Xia X. C., Raupp W. J. Catalogue of gene symbols for wheat: 2018 supplement. 2018.
2. Porotnikov I. V., Mitrofanova O. P., Antonova O. Yu. A system of molecular markers to identify alleles of the *Rht-B1* and *Rht-D1* genes controlling reduced height in bread wheat. Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2022;26 (2):128–138. DOI 10.18699/VJGB-22–1.



Механизм регуляции клубнеобразования у картофеля с помощью азота в среде

М.С. Ганчева¹, А.В. Мыскова¹, Л.А. Лутова¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9

m.gancheva@spbu.ru

У картофеля избыток азота может привести к чрезмерному вегетативному росту в ущерб развитию клубней, что приводит к снижению урожайности. Мы выявили группу пептидных гормонов *CLE*, предположительно вовлеченных в ответ на азот, и получили растения картофеля с измененным уровнем экспрессии генов *CLE* этой группы. Мы показали, что сверхэкспрессия одного из них, *CLE4*, приводит к росту столонов в побеги, а не в клубни, что в итоге негативно сказывается на урожайности. Также, сверхэкспрессия *CLE4* негативно влияет на функционирование апикальной меристемы побега, и рост побега возобновляется только благодаря пазушным почкам. При этом сверхэкспрессия других генов *CLE* из той же филогенетической группы (*CLE5*, *CLE11*, *CLE24*, *CLE25*, *CLE41*) не приводит к подобному фенотипу. С помощью анализа транскриптома листьев растений со сверхэкспрессией *CLE4* мы обнаружили в них снижение экспрессии гена *IT1*, который является позитивным регулятором клубнеобразования. При этом с помощью дрожжевой одногибридной системы мы выявили взаимодействие транскрипционных факторов *NLP3* и *NLP5*, которые у картофеля предположительно выполняют функцию сенсоров азота, с промоторной областью гена *IT1*. Таким образом, мы обнаружили возможный сигнальный путь, ведущий от рецепции азота до регуляции клубнеобразования. Дальнейшие исследования механизмов регуляции роста и развития растений с помощью генов *CLE* и их взаимодействия с сигнальными путями азота будут иметь решающее значение для понимания того, как растения реагируют на изменения количества азота в среде.

Данная работа выполняется при поддержке гранта РФФИ 22-76-00022 (SPBU ID: 107178420).



Метаболическое профилирование зерна пшеницы для оценки питательных качеств сортов

Н.И. Голушко¹, Н.О. Ерофеева¹, С.А. Силинская², Д.В. Михайлова³, А.А. Орлова², Т.Е. Билова^{1, 2},
М.В. Шапошников³, А.А. Фролов², Е.К. Хлесткина⁴

¹ Кафедра физиологии и биохимии растений, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

² Лаборатория аналитической биохимии и биотехнологии, Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН, Москва, Россия

³ Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук (ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН), Сыктывкар, Россия

⁴ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), Министерство науки и высшего образования, Санкт-Петербург, Россия

abvaxk21@bk.ru

В современном сельском хозяйстве селекция пшеницы играет ключевую роль в обеспечении продовольственной безопасности и улучшении пищевой ценности семян. Для достижения успехов в селекционной работе по разработке сортов с оптимальным составом питательных веществ, важно провести исследования естественного генетического потенциала пшеницы. Для решения этой задачи представляется целесообразным изучение соответствующих генетических коллекций. Отправной точкой этой работы явилась оценка питательной ценности и отбор наиболее перспективных в плане питательной ценности сортов пшеницы, для чего был выполнен нутрициологический скрининг на модельном объекте *Drosophila melanogaster*. Результаты этого теста позволили выявить 6 сортов с положительным и 4 сорта с отрицательным эффектом на выживаемость дрозофил из 30 исследуемых сортов. На следующем этапе, с целью выявления метаболитов — ключевых маркеров пищевой ценности семян, было выполнено профилирование полярных метаболитов с использованием ненаправленного метаболомного подхода с применением газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ–МС). Было выполнено сравнение профилей метаболитов трех сортов, благоприятствующих выживанию дрозофил, и трех сортов, потребление семян которых снижало выживаемость экспериментальных животных. Эта работа позволила выявить ряд метаболитов (глицерол-фосфаты, органические кислоты), накапливающихся в сортах, способствующих выживаемости дрозофил, а также метаболиты (некоторые аминокислоты, полиолы, глюконовая кислота), уровень содержания которых оказался большим в сортах, способствующих снижению выживаемости дрозофил. Таким образом, полученные данные могут служить основой для дальнейших исследований в области изучения качества и питательной ценности семян, используемых в селекции сортов пшеницы.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России проекта «Хлеба России» по соглашению № 075-15-2021-1066 от 28.09.2021 г. с использованием оборудования ресурсных центров СПбГУ («Развитие молекулярных и клеточных технологий», «Криогенный отдел», «Методы анализа состава вещества»).



Определение содержания хлорофилла и экспрессии генов его метаболизма в селекционных линиях кукурузы

А.Х. Гяургиев¹, Д.Х. Архестова¹, Р.А. Гажева¹, А.И. Сарбашева¹

¹ ИСХ КБНЦ РАН

agyaurgiyev@inbox.ru

Кукуруза (*Zea mays* L.) является предпочтительной силосной культурой в сравнении с другими кормами из-за мягкости, высокого содержания крахмала и сахаров, необходимых для правильного силосования, а также из-за преимуществ по усвояемости содержащихся в ней веществ. Хлорофиллы а и b, являющиеся основными пигментами листьев растений, обладают антиоксидантными и антимутагенными свойствами. Также производные хлорофилла положительно влияют на жировой обмен, мышечную массу и развитие животных, что в дальнейшем оказывает влияние на их здоровье и качество мяса. Обеспечение животных кормами с более высоким уровнем хлорофилла и его производных поможет производить высококачественные продукты животного происхождения. Целью работы стало определение содержания хлорофиллов а и b, а также генов их метаболизма в селекционных образцах кукурузы для выделений линий кормовой направленности и дальнейшего их использования в селекции сортов с улучшенными кормовыми характеристиками.

Содержание хлорофиллов определяли спектрофотометрически методом Фолча в листьях пятого яруса у 174 инбредных линий кукурузы коллекции ИСХ КБНЦ РАН. Показано, что содержание хлорофилла в линиях могло отличаться в 4,5 раза и колебалось в широких пределах (108,5–598,0 мкг/мл — для хлорофилла а; 49,0–263,1 мкг/мл — для хлорофилла b). Соотношение хлорофилл а/хлорофилл b варьировало в пределах 1.9–2.7. По результатам биохимического анализа исследуемые образцы формировали три условные группы: с повышенным содержанием хлорофилла а (>300 мкг/мл) (69 линий); со средним (200–300 мкг/мл) (56 линий); с низким уровнем (< 200 мкг/мл) (49 линий).

В линиях, контрастных по содержанию хлорофиллов, определена экспрессия генов синтеза пигментов (*psaA*, *psbA*), ферментов пути метаболизма (*PORA*, *PORB*, *CAO*, *CHLG1*, *CHLG2*) и регуляторного гена (*DELLA1*). Для большинства образцов показана прямая зависимость между уровнем транскрипции регуляторного и структурных генов биосинтеза и содержанием пигмента в листьях. При этом выявлена линия (823), у которой низкое содержание хлорофиллов является результатом не пониженной экспрессии генов биосинтеза, а высокой транскрипции генов деградации пигментов.

В результате работы выделены линии кукурузы с повышенным содержанием хлорофиллов для дальнейшей селекции сортов с улучшенным качеством силосной массы.



Возможности применения ускоренного выращивания (Speed Breeding) кукурузы (*Zea Mays* L.)

А.Р. Дмитриева¹, А.О. Блинков¹, Н.Ю. Свистунова¹, В.Ю. Канунникова¹, А.А. Деревянко¹,
А.А. Кочешкова¹, М.Г. Дивашук¹

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва

Anna.dmitrieva-8@yandex.ru

Получение гетерозисных гибридов является основным направлением в селекции кукурузы. Получение инбредных родительских линий, перевод материнской линии на стерильную основу и первичное семеноводство гибрида может затягиваться на период от 10 до 15 лет. Сокращение затрачиваемого времени может быть достигнуто посредством использования революционного подхода ускоренного выращивания растений — «Speed breeding» (SB). Данный подход направлен на сокращение времени вегетации и получению максимально возможного количества поколений за год. Осуществляется это за счет использования оптимальной продолжительности светового дня, интенсивности и качества света, температуры, ранней уборки сформировавшихся семян и преодоления послеуборочного покоя [1]. Разработанного протокола ускоренного выращивания кукурузы на данный момент нет, в связи с чем целью данной работы являлось проведение экспериментов по подбору оптимальных параметров для ускоренного зацветания, формирования хорошо озернённых початков и сокращения периода созревания.

Для ускорения цветения были подобраны оптимальные условия, включающие в себя короткий фотопериод продолжительностью 10 ч день/ 14 ч ночь, интенсивность света в районе 800 мкмоль/м²/с, температура 26 °С днем/ 20 °С ночью, влажность воздуха 50%. Выращивание кукурузы проводится в горшках объёмом 11 литров, использование меньшего объёма приводит к формированию маленьких початков или их отсутствию. В условиях SB сильно проявляется протерандрия, в связи с чем рекомендуем высевать растения одного генотипа несколько раз с интервалом в 5–7 дней. Для сокращения периода созревания возможно использовать принудительную сушку на 20 сутки после первого опыления или использовать эмбриокультуру.

С использованием отобранных нами показателей время от посева до уборки составляет от 76 до 99 суток. С использованием данных параметров нами активно ведутся практические работы, такие как выращивание донорных растений для геномного редактирования, быстрое выращивание гаплопродюсеров для их скрещивания с пшеницей, размножение и поддержание линий, а также инцухтирование.

- [1] Xu Y. et al. Feeding the world using speed breeding technology // Trends in Plant Science. — 2023. — Т. 28. — №3. — С. 372–373.



Механизмы фотопериодической регуляции развития запасающего корня *редис*

И.Е. Додуева¹, К.А. Кузнецова¹, Л.А. Лутова¹, И.Г. Тараканов²

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

² РГАУ-МСХА, Москва

wildtype@yandex.ru

Редис посевной (*Raphanus sativus* L.) — корнеплодная культура с коротким жизненным циклом, родственная *Arabidopsis thaliana*, является удобным модельным объектом для изучения генетики развития запасающего корня. Развитие запасающего корня, как и других запасающих осевых органов растений, зависит от фотопериода [1], в частности, у редиса усиленный рост запасающего корня наблюдается при длинном дне [1, 2]. О механизмах фотопериодической регуляции развития корнеплода практически ничего не известно, однако предполагается, что в этом процессе могут действовать те же регуляторы, что участвуют в развитии подземных запасающих побегов — клубней картофеля [1]. К числу важнейших регуляторов развития растений в зависимости от фотопериода относятся мобильные белки семейства PEPV, в частности, основные регуляторы цветения — белок FT (так называемый флориген, существование которого было предсказано еще М. Х. Чайлахяном) и его антагонист белок TFL (антифлориген). У картофеля были выявлены белки этого же семейства, участвующие в фотопериодическом контроле развития клубней — SP6A, названный туберигеном, и SP5G, действующий как антитубериген [3, 4]. В дальнейшем было показано участие белков этого семейства в развитии лукович у лилейных [4]. В нашей работе мы проанализировали влияние разной длины светового дня, а также соотношения красного и дальнего красного света на развитие запасающего корня редиса. Было показано, что длинный световой период стимулирует развитие запасающего корня и подавляет цветение и наоборот. Дальний красный свет также является индуктором цветения и негативным регулятором развития запасающего корня. Транскриптомный анализ показал, что красный свет, в отличие от дальнего красного, подавляет экспрессию основных генов-регуляторов фотопериодического цветения, в том числе ряда генов, кодирующих белки семейства PEPV, которые предположительно играют роль флоригенов. В то же время, экспрессия других генов этого семейства в ответ на красный свет не менялась или даже повышалась. Также в ответ на красный свет наблюдалась активация экспрессии ряда генов, предположительно влияющих на развитие запасающего корня. У редиса идентифицированы 12 генов, кодирующих полнодлинновые белки семейства PEPV. Были получены конструкции для сверхэкспрессии некоторых генов PEPV редиса. Сверхэкспрессия разных генов PEPV в корнях редиса приводила к активации одного из двух антагонистических процессов — цветения или развития запасающего корня.

- [1] Natarajan B., Kondhare K. R., Hannapel D. J., Banerjee A. K. Mobile RNAs and proteins: Prospects in storage organ development of tuber and root crops. *Plant Sci.* 2019, 284:73–81.
- [2] Guo R., Li W., Wang X. et al. Effect of photoperiod on the formation of cherry radish root. *Scientia Horticulturae* 2019, 244:193–199.
- [3] Navarro C., Abelenda J. A., Cruz-Oró E., et al. Control of flowering and storage organ formation in potato by Flowering Locus T. *Nature* 2011, 478: 119–122.
- [4] Khosa J., Bellinazzo F., Kamenetsky R., et al. PHOSPHATIDYLETHANOLAMINE-BINDING PROTEINS: the conductors of dual reproduction in plants with vegetative storage organs. *J Exp Bot.* 2021, 72(8):2845–2856.

Исследования проведены при поддержке гранта Министерства образования РФ на создание научно-центра мирового класса «Агротехнологии будущего» (соглашение No 075-15-2022-322 от 22.04.2022).



Роль сигнальных молекул клубеньковых бактерий Nod-факторов в контроле иммунного ответа у растений гороха

А.М. Дымо¹, П.Ю. Козюлина¹, О.А. Павлова¹, Е.С. Канцурова¹, А.В. Долгих¹, Е.А. Долгих¹

¹ ФГБНУ ВНИИСХМ, Санкт-Петербург
dymolina@yandex.ru

Клубеньковые бактерии пор. *Rhizobiales* способны формировать внутриклеточные симбиозы с бобовыми растениями, при этом эффективно регулируя иммунный ответ со стороны растений. Недавние исследования на небобовых растениях показали, что под влиянием обработки сигнальными молекулами клубеньковых бактерий Nod-факторами у таких растений снижается иммунный ответ. Однако рецепторы и регуляторы, подавляющие иммунный ответ у бобовых растений, остаются практически неизученными. Было высказано предположение, что Nod-факторы могут активировать гены ферментов, влияющих на стабильность паттерн-распознающих рецепторов (ПРР) и активность ключевых регуляторов сигнальных путей — митоген-активируемых протеинкиназ (МАР-киназ), что может приводить к подавлению иммунного ответа со стороны растений. Одним из таких ПРР является рецептор LYK9 у гороха и комплекс активируемых им МАР-киназ. С помощью транскриптомного анализа нами были выявлены несколько убиквитин-лигаз и фосфатаз, способных влиять на стабильность ПРР и активность МАР-киназ. С помощью агробактериальной трансформации листьев *Nicotiana benthamiana*, нам удалось показать, что выявленные E3-убиквитин-лигазы способны снижать содержание и активность ПРР LYK9. С помощью скрининга библиотек и анализа в дрожжевой дигибридной системе нам удалось выявить белки, которые потенциально могут взаимодействовать с одной из МАР-киназ (МАРКК6), активируемой рецептором LYK9. В корнях композитных растений гороха со сверхпродукцией МАРКК6 наблюдали увеличение генов, регулирующих иммунный ответ со стороны растений. Известно, что рецептор AtLYK3 арабидопсиса участвует в распознавании сигнальных молекул клубеньковых бактерий Nod-факторов, поэтому был проведен поиск его ближайших гомологов у бобовых растений. В результате, был выявлен и исследован новый LysM-содержащий рецептор, изучено его влияние на симбиоз у гороха посевного и люцерны усеченной. Проведенный анализ указывает на участие выявленного рецептора в контроле иммунного ответа у гороха.

Работа поддержана грантом НЦМУ № 075-15-2022-320.



Изучение морфогенетической способности различных сортов гороха и видов эксплантов при микроклональном размножении в культуре *in vitro*

Н.Л. Ермоленко¹, Е.Н. Кулинкович¹, Е.Ф. Барчевская¹

¹ РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию», Жодино

korzun_76@mail.ru

Аннотация. Изучена возможность введения в культуру *in vitro* гороха. Определены оптимальные стерилизующие агенты и их концентрации. Установлено, что различные виды эксплантов различались как по каллусогенной, так и по морфогенной способности. При культивировании эксплантов гороха в культуре *in vitro* на средах для инициации каллусогенеза данный процесс протекает с высокой интенсивностью у всех видов эксплантов. Интенсивнее всего каллусогенез протекал у апикальной части стебля (85,1–98,3%). Морфогенная активность у всех видов эксплантов была значительно ниже, чем каллусогенная (4,9–86,5%), и закономерность снижения морфогенной активности от верхушек побегов до семядольных листьев сохраняется у всех сортов.

Одним из главных условий успешного внедрения биотехнологических методов для создания и отбора нового исходного материала является разработка эффективных методов регенерации растений из культивируемых в условиях *in vitro* каллусных и клеточных культур.

Исследования проводились в лаборатории биохимии и биотехнологии РУП «НПЦ НАН Беларуси по земледелию» в 2019–23 г.г. Для введения гороха в чистую культуру была проведена оценка различных стерилизующих агентов. Оптимальным стерилизующим агентом мы считаем Domestos в 15% концентрации с экспозицией 30 минут. Для повышения выхода стерильных растений в дальнейшем использовали сочетания двух видов стерилизации: спирт + Domestos или моющее средство + Domestos. Данное сочетание позволяло провести обезжиривание оболочек семян и дополнительную стерилизацию без снижения всхожести и количества жизнеспособных проростков.

Интенсивность протекания каллусогенеза изменялась в зависимости от способа стерилизации. Максимальное значение отмечено в варианте со средством Хозяюшка (123,8%), где многие экспланты образовывали группу каллусов, которые легко отделялись друг от друга при последующих пассажах.

Для изучения способности к каллусогенезу и морфогенезу различных видов эксплантов были заложены опыты на сортах гороха посевного — *Миллениум*, *Презент*, *Виктор* и полевого — *Марат*, *Зазерский усатый*, *Спринт*. Анализ результатов показал, что интенсивнее всего каллусогенез протекал у апикальной части стебля. Самые высокие показатели отмечены у сортов: *Зазерский усатый* (98,3%), *Миллениум* (97,3%), *Виктор* и *Спринт* (95,3%). У образцов *Презент* и *Марат* каллусогенная способность составила 85,1–87,3% соответственно. У семядольных узлов каллусогенная способность изменялась от 53,0% у сорта *Презент* до 73% у сортов *Спринт* и *Виктор*. Части семядолей и первого листа также обладали высокой каллусогенной способностью от 75,1% у сорта *Презент* до 89,6% у сорта *Миллениум*.

Процессы морфогенеза протекали менее интенсивно. Лучшие показатели у сорта *Миллениум* (4,9% — у части семядолей и первого листа и 86,5% у апикальной части стеблей). Хорошими показателями морфогенеза характеризовались сорта *Спринт* и *Марат* (морфогенная способность 88,5% и 76,5%, соответственно). Морфогенная способность у семядольных узлов была ниже и варьировала от 1,3% у образца *Зазерский усатый* до 17,3% у сорта *Спринт*. Таким образом, морфогенная активность у всех видов эксплантов была значительно ниже, чем каллусогенная, и закономерность снижения морфогенной активности от верхушек побегов до семядольных листьев сохраняется у всех сортов независимо от их морфотипа.

Таким образом, перспективным видом экспланта для микроклонального размножения у гороха являются верхушки побегов с апикальными меристемами, самым отзывчивым на методику микроклонального размножения среди изученных образцов является сорт *Миллениум*.



Генофонд источников хозяйственно-ценных признаков озимой ржи

Д.А. Жиганов¹, Т.Я. Ермолаева¹, Н.Н. Нуждина¹, Н.А. Салманова¹, В.Н. Нечаев¹

¹ ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока»

zhigdnk@bk.ru

Ключевые слова: озимая рожь, морфофизиологические признаки, сортообразцы.

Озимая рожь является важнейшим злаковым культурным растением, в связи с ее высокой устойчивостью к неблагоприятным метеорологическим условиям. За последние 10 лет урожайность ржи значительно выросла, как в Европе, так и во всем мире. Основные отрасли, которые используют ржаное зерно — это хлебопекарное производство и производство кормов для животных.

Актуальность исследования определяется необходимостью ежегодной оценки и наблюдений образцов по комплексу биологических и морфофизиологических признаков, в связи с перекрестным опылением культуры и ее внутрисортным разнообразием.

Цель исследования: на основе изучения коллекции ВИР выделить источники хозяйственно ценных признаков и предложить перспективные образцы к включению в селекционную работу.

Испытание сортов проходило в 2022–2023 гг. на опытном поле ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока». В исследовании проанализировано 15 сортообразцов, включая стандарт сорт Саратовская 7. Исходный материал высевали на делянках длиной 2 м. Ширина междурядий 0,15 м, норма высева 4,0 млн всхожих семян на 1 га. Дата посева 18 августа. Для проведения лабораторных анализов использовали отобранный пробный снопок из 25 растений.

Анализ качества зерна озимой ржи был проведен в «Лаборатории селекции и семеноводства озимой ржи» ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока».

2022 г. характеризовался обилием осадков в виде снега, по периоду активной вегетации — среднезащливым. ГТК_{IV-VI} составлял 0,75.

2023 — год с избыточным увлажнением. ГТК_{IV-VI} составлял 1,04.

Большинство сортов по фенотипическому признаку относятся к рецессивному типу короткостебельности на естественном инфекционном фоне. Выделены сорта, устойчивые зимующими грибами *Sclerotinia graminearum* Elen и *Microdochum nivale*.

Выводы. По совокупности морфофизиологических признаков перспективными для использования в селекции являются сорта: Петровна, Эра, Клич, отличаются низкорослостью и высоким количеством зерен в колосе; крупностью зерна и низкорослостью характеризуются сорта Саратовская 7, Харьковская самофертильная. Иммунер 76 и Вырий представляют интерес как наиболее устойчивые к поражению зимующими грибами.



Результаты селекционной работы по созданию перспективных линий яровой мягкой пшеницы интенсивного морфотипа

В. Г. Захаров¹

¹ Самарский федеральный исследовательский центр РАН,
Ульяновский научно-исследовательский институт сельского хозяйства
ulniish@mail.ru

В настоящее время созданию сортов яровой мягкой пшеницы интенсивного морфотипа отечественными селекционерами уделяется большое внимание. Это связано с тем, что во многих эффективных сельскохозяйственных предприятиях повышается интерес к подобным сортам, пока преимущественно иностранной селекции. Они способны, при благоприятных погодных условиях и/или при интенсификации технологии возделывания, реализовывать генетический продуктивный потенциал, в том числе благодаря высокой устойчивости к полеганию. Вместе с тем многие из них имеют недостаточный уровень адаптивности, характерный для местных сортов, поэтому, при ухудшении оптимума соответствия биологических особенностей условиям среды, происходит существенное снижение урожайности.

Одним из направлений селекционной работы в Ульяновском НИИСХ-филиале СамНЦ РАН является выведение сортов нового для зоны исследований интенсивного морфотипа, с адаптивностью на уровне местных стандартных сортов. Одними из основных параметров модели нового сорта является снижение высоты растений, повышение Кхоз, а также увеличение выраженности элементов структуры урожайности, которые обеспечивают отзывчивость на интенсификацию.

Проведено изучение интенсивных и полуинтенсивных наборов перспективных селекционных линий. Результаты исследований, проведенные при среднем уровне агротехники, показали, что в целом интенсивные образцы уступили по урожайности полуинтенсивным на 0,19 т/га. Однако в первой группе присутствовали линии 847/21, 850/21, 861/21, которые превысили урожайность, лучших линий второй группы. Высота растений у сортообразцов первой группы была на 17,9 см ниже, и все они высокоустойчивые к полеганию. Вынос верхнего междоузлия косвенно характеризует адаптивность, вместе с тем результаты целенаправленной селекции на изменение габитуса растений показывают на возможность создания сортов с широкой нормой реакции, имеющих более короткое верхнее междоузлие. Резервом реализации генетического потенциала перспективных интенсивных линий является повышение продуктивности колоса, реализующийся через длину колоса (+0,3 см), количество колоском в колосе (+0,6 шт.), массу зерна с колоса (+0,02 г), количество зерен в колосе (+3,9 шт.). Несмотря на то, что разница по Кхоз между двумя группами незначительная, обозначена тенденция увеличения этого показателя. Очевидно, что возделывание интенсивных линий в лучших агротехнологических условиях приведет к увеличению её величины.



Состояние и перспективы выведения новых сортов кормового ячменя в Беларуси

А. А. Зубкович¹, Е. Л. Долгова¹

¹ РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию», г. Жодино, Беларусь
aa_zoubkovitch@mail.ru

В настоящее время в Государственный реестр Республики Беларусь включено 12 сортов озимого и 26 сортов ярового кормового ячменя, в том числе белорусской селекции 1 и 14, соответственно. Доля отечественных сортов в посевах ярового кормового ячменя в 2023 году в Беларуси составила 95,5%, озимого (под урожай 2024 года) — 13,7%.

В последние годы зарегистрированы сорта ярового ячменя кормового направления использования Рейдер, Корнет, Мажор и Бизнес. Проходят испытание в Беларуси сорта кормового направления использования Фунтик, Делегат, Депутат, Спикер, Блогер, Брокер и Ридер. Впервые в истории Беларуси зарегистрированы голозерные сорта ярового ячменя Адамант и Дева. Последний с 2022 года допущен к использованию в РФ по четырем регионам, с прибавкой урожайности к плёнчатым контролям +0,5% (в среднем по 4 регионам).

Изменить продолжающуюся тенденцию сокращения площади посева ярового ячменя можно путём создания и предложения производству сортов с уникальным качеством продукции.

Изменение погодно-климатических условий в осенне-зимний период, установление особенностей возделывания и уточнение ассортимента используемых пестицидов привело к резкому увеличению посевных площадей озимого ячменя в Республики Беларусь. С 2022 года допущен к использованию в Беларуси и в 2 регионе РФ сорт Буслик (разновидность *pallidum*) с потенциальной урожайностью до 110 ц/га. В РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию» развернут полномасштабный селекционный процесс по выведению новых сортов озимого двухрядного и многорядного ячменя кормового направления использования.

Считается, что для увеличения биодоступности фосфора и микроэлементов в корме и зерновых пищевых продуктах можно использовать сорта с низким содержанием фитатов. У ярового ячменя известно более 20 мутантов с низким содержанием фитатов в зерне, с расположением генов в шести локусах. Каждый из этих мутантных *lra*-локусов по-разному влияет на содержание в зерне органического и минерального фосфора. Существует ряд жизнеспособных селекционных линий LP1, LP2, LP3, LP4, которые несут мутации *lra1-1*, *lra2-1*, *lra3-1*, Pmut995, соответственно. С их использованием иностранными селекционерами созданы первые *lra*-сорта ячменя: плёнчатые Herald (*lra1-1*), Clearwater (Pmut640) и голозерные CDC Lophy (*lra3-1*), Sawtooth (*lra1-1*) [1].

Нами предложен метод создания генетических доноров ярового ячменя с низким содержанием фитиновой кислоты. Данный метод предусматривает отбор низкофитиновых генотипов на ранних этапах селекционного процесса на основе использования 3-х пар праймеров SSR-маркеров, ассоциированных с генами низкого содержания фитатов (M 422, M640, M678). Осуществлена передача *lra*-локусов в высокопродуктивный селекционный материал путём проведения последовательных циклов скрещивания исходных мутантных форм, несущих *lra*-локусы с элитными линиями лучших коммерческих сортов кормового ячменя, с обязательным отбором низкофитиновых растений в лабораторных условиях, получено их семенное потомство (более 200 линий 24-х гибридных комбинаций). Выделены линии, являющиеся генетическими донорами низкого содержания фитиновой кислоты ярового ячменя.

- [1] Raboy, V. A substantial fraction of barley (*Hordeum vulgare* L.) low phytic acid mutations have little or no effect on yield across diverse production environments / Raboy, V., Peterson, K., Jackson, C., Marshall, J., Hu, G., Saneoka, H. & Bregitzer, P. // *Plants*. — 2015. № 4. — P. 225–239.



Контролируемая активация и получение новых инсерций ретротранспозонов у подсолнечника *Helianthus annuus* L.

М.Ю. Казанцев^{1, 2}, П.Ю. Меркулов^{2, 1}, Я.Н. Демури³, И.В. Киров^{1, 2}

¹ Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный

² ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва

³ Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур им. В.С. Пустовойта, Краснодар

miykazantsev@gmail.com

Около 81% генома *Helianthus annuus* L. состоит из последовательностей, относящихся к мобильным элементам (МЭ), которые способны создавать новые копии самих себя и перемещаться по геному, приводя к различным геномным реорганизациям. Последние исследования показывают, что именно мобильная активность МЭ является одной из движущих сил эволюции и селекции [1, 2].

Для активации мобилома и изучения особенностей организации активных МЭ нами был применён метод TE-genesis [3]. Данный метод позволяет реактивировать МЭ в геноме растений путём воздействия на системы метилирования ДНК и РНК-интерференции за счёт комбинированного воздействия стресса и определённых химических веществ.

С помощью нанопорового секвенирования кДНК и внехромосомных кольцевых ДНК был изучен ответ на TE-genesis. При помощи анализа вкДНК был обнаружен ретротранспозон *Ty3/Gypsy*, названный нами *SUNTY3*, демонстрировавший активность в условиях TEgenesis.

Удалось получить две популяции растений M0 и M1, которые перенесли активацию МЭ и потенциально несут новые инсерции в геноме. Для подтверждения этого планируется провести полногеномное нанопоровое секвенирование растений с последующей ПЦР-валидацией вставок *SUNTY3*.

[1] Lisch D. How important are transposons for plant evolution? // Nat Rev Genet. 2013. V. 14. pp. 49–61.

[2] Feschotte C., Jiang N., Wessler S. Plant transposable elements: Where genetics meets genomics // Nat. Rev. Genet. 2002. V. 3. pp. 329–341.

[3] Thieme M., Lanciano S., Balzergue S., Daccord N., Mirouze M., Bucher E. Inhibition of RNA polymerase II allows controlled mobilisation of retrotransposons for plant breeding // Genome Biology. 2017. V. 18. № 1. pp. 1–10.

Работа поддержана грантом РНФ № 22-64-00076.



Влияние чужеродного генетического материала на морфологическое строение побегов некоторых интрогрессивных линий яровой мягкой пшеницы

А.В. Калинина¹, Ю.В. Даштоян¹

¹ ФГБНУ ФАНЦ Юго-Востока

kalininaal@mail.ru

Одним из приоритетных направлений селекции культурных растений является улучшение их генофонда за счет внедрения новых генов хозяйственно ценных признаков от представителей диких сороричей. Для мягкой пшеницы источником генетического материала, в том числе и генов устойчивости к различным негативным биотическим и абиотическим факторам окружающей среды, является тетраплоидный вид злаков *Aegilops columnaris* Zhuk.

Целью исследований являлось выявление критериев, позволяющих определять влияние идентифицированных хромосом у линий с генетическим материалом от *Ae. columnaris* на некоторые элементы структурного анализа продуктивности побегов.

Исследования проводились в 2023 году на базе лаборатории генетики и цитологии ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока». В работе использовались сорт яровой мягкой пшеницы Л503 и 6 линий яровой мягкой пшеницы с замещениями хромосом от *Ae. columnaris*: л1773/2 (3D(3U)Л503), л1930 (1D(1X) п6At6D Л503), л1968/1 (5D(5X) Л503), л1718 (6D(6X) Л503), л1867/3 (5D(5X) 6D(6X) Л503) и л2304/1 (5D(5X) 6D(6X) Л503).

В результате исследования определены различия по длине эпикотилия у сорта-реципиента и линий яровой мягкой пшеницы с замещениями хромосом от *Ae. columnaris*. Установленные различия зависят от количества замещенных хромосом и от того, какая именно хромосома была замещена на чужеродный генетический материал. Выявлено отрицательное влияние на длину эпикотелия замещения 3D(3U) и 1D(1X), положительное 5D(5X) и 6D(6X) и положительное с аддитивным эффектом двойного замещения 5D(5X) 6D(6X).

Выявлена положительная корреляция (коэффициент корреляции 0,93**) между длиной эпикотилия и массой 1000 зерен пшенично-эгилопсных (*Ae. columnaris*) интрогрессивных линий и их материнской формы.

Проведен сравнительный анализ значений длины эпикотилия и междоузлий стебля главного побега сорта Л503 и линий с замещениями хромосом от *Ae. columnaris*. Выявлена положительная корреляция между длинами эпикотилия и первым междоузлием (коэффициент корреляции 0,78*), а также между длинами эпикотилия и вторым междоузлием (коэффициент корреляции 0,79*) главного побега исследуемых сорта и линий. Аналогичная тенденция влияния количества и качества замещаемого генетического материала на морфометрические критерии главного побега сохранялась и при сравнении длины эпикотилия с длинами третьего и четвертого междоузлий, коэффициенты корреляции при этом составили 0,76* и 0,81*, соответственно.



Новые ретротранспозонные маркёры для изучения генетического разнообразия сортов малины

А.М. Камнев¹, Н.Д. Яговцева², Е.Ю. Невоструева³, А.А. Кузьмина⁴, О.Ю. Антонова¹

¹ ФИЦ «Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР)», Санкт-Петербург

² Отдел Федерального Алтайского научного центра агротехнологий «НИИСС им. М.А. Лисавенко», Барнаул

³ Свердловская селекционная станция садоводства –

структурное подразделение ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, Екатеринбург

⁴ Сибирский научно-исследовательский институт растениеводства и селекции –
филиал ИЦиГ СО РАН, Новосибирск

antonkamen@mail.ru

Наиболее часто для генотипирования и молекулярной паспортизации различных объектов используют микросателлитные маркёры (SSR-маркёры). Однако в некоторых случаях полиморфизм SSR-локусов может быть недостаточен: так, например, на выборке из нескольких десятков сортов малины для некоторых SSR-локусов были отмечены крайне низкие показатели PIC — 0,056 и 0,100 [1]. В таких случаях можно использовать другие типы маркёров, в частности маркёры на основе ретротранспозонов. Ретротранспозоны делятся на две большие группы: элементы, обладающие длинными концевыми повторами (LTR-ретротранспозоны), и не имеющие таковых (LINE- и SINE-элементы). SINE-элементы отличаются высокой гетерогенностью, но при этом имеют ряд общих черт в строении, что позволило на основе методов биоинформатики разработать программный алгоритм, направленный на поиск таких элементов в полногеномных сиквенсах. На основе данных о последовательностях SINE-элементов можно разработать в их наиболее консервативных участках праймеры для амплификации ДНК-фрагментов между SINE-элементами. Данный метод получил наименование ISAP (Inter-SINE Amplified Polymorphism — Полиморфизм длин фрагментов между SINE-элементами) [2].

Целью нашей работы было разработать ISAP-маркёры, пригодные для генотипирования различных образцов малины и протестировать их пригодность для генотипирования на выборке сортов малины уральской и сибирской селекции.

Для поиска SINE-элементов использовали программу SINE-Finder [3]. В полногеномном сиквенсе малины западной (*Rubus occidentalis* L.) было обнаружено более 1900 SINE-ретротранспозонов. Последовательности были выравнены с помощью алгоритма ClustalO, и по результатам была построена кладограмма, на которой выявленные ретротранспозоны сгруппировались в 10 кластеров (или семейств). Для каждого кластера были выявлены консервативные участки, к которым с помощью программы Primer3Plus были подобраны ISAP-праймеры для амплификации. Предварительный отбор наиболее полиморфных маркёров проводился на выборке из 16 образцов малины и ежевики. По результатам апробации отобрано 4 пары праймеров, генерирующих полиморфные фрагменты. В дальнейшем пригодность отобранных маркёров для генотипирования была протестирована на выборке сортов малины уральской и сибирской селекции (всего 28 сортов). Каждый маркёр выявил от 17 до 22 аллелей, число бэндов на образец лежит в диапазоне от 4 до 10, показатель PIC составил 0,89–0,90. Каждый сорт имел индивидуальный ISAP-профиль, воспроизводящийся в нескольких повторностях.

Таким образом, нами были разработаны новые ISAP-маркеры, пригодные для генотипирования сортов малины.

[1] Dossett et al., Genetic Resource and Crop Evolution. — 2012. — V. 59. — P. 1849–1865.

[2] Seibt et al., Theor. Appl. Genet. — 2012. — V. 125(1). — P. 185–196. DOI.org/10.1007/s00122-012-1825-7.

[3] Wenke et al., Plant. Cell. — 2011. — V. 23. — P. 3117–3128. DOI.org/10.1105/tpc.111.088682.



Определение ploидности селекционных и биотехнологических образцов овощных пропионо-лакмоидным методом цитологического анализа

Л.Ю. Кан¹

¹ ФГБНУ ФНЦО, Московская обл.

loyus@mail.ru

Более двадцати лет развиваем цитологические исследования овощных растений, которые проводим несложным, но довольно эффективным пропионо-лакмоидным методом [1], путём приготовления давленных препаратов меристемы стебля и кончика корней. Метод отлично зарекомендовал себя при кариологических исследованиях селекционно-генетического материала большинства овощных и прянокусовых культур. Удобство заключается в том, что фиксация материала (в пропионовой кислоте) и окрашивание (лакмоидом) происходит одновременно в стандартном растворе пропионо-лакмоида в течение 24 часов, что положительно влияет на качество приготовления препаратов.

Наряду с работами по кариотипированию видов (в том числе, мелкохромосомных) и разновидностей — представителей семейств *Apiaceae*, *Brassicaceae*, *Cucurbitaceae*, *Chenopodiaceae*, при отработке технологии получения удвоенных гаплоидов у основных овощных культур проводим исследования по уточнению ploидности донорных растений и регенерантов, полученных в культуре микроспор и неопылённых семян *in vitro*. Установлена и подтверждена гаплоидная природа растений-регенерантов капусты, моркови, редиса, свёклы столовой, соматические клетки которых содержали гаплоидный ($2n = x = 9$) набор хромосом [2, 3, 4]. Подтвержден триплоидный уровень ploидности ($2n = 3x = 27$) некоторых образцов моркови, в сравнении с данными проточной цитометрии; определена тетраплоидная природа ($2n = 4x = 36$) растения-регенеранта моркови. Впервые были получены микрофотографии хромосом кабачка *C. pepo* subsp. *brevicaulis* и его отдаленного гибрида с тыквой *C. pepo* subsp. *pepo*, а также полученных из них удвоенных гаплоидов. Цитологический анализ полученных растений-регенерантов показал, что 7% из них были гаплоидными, около 20% из проанализированных растений R_0 оказались миксоплоидами, а остальные были удвоенными гаплоидами ($2n = 2x = 40$) [5].

Пропионо-лакмоидная методика рекомендована в качестве ускоренного и информативного метода цитологического анализа хромосом.

- [1] Соловьёва Л. В. Практикум по цитологии плодовых растений. — М.: Изд-во МГУ, 1982.
- [2] Домблидес Е. А., и др. Технология получения удвоенных гаплоидов в культуре микроспор семейства капустные. ФГБНУ «ВНИИССОК». М., 2016.
- [3] Вюртц Т. С., и др. Получение ДН-растений в культуре микроспор моркови // Овощи России. — 2017. — № 5. — С. 25–30. DOI:10.18619/2072–9146–2017–5–25–30.
- [4] Zayachkovskaya, T. et al. Production of Gynogenetic Plants of Red Beet (*Beta vulgaris* L.) in Unpollinated Ovule Culture in Vitro. *Plants* 2021,10,2703.
- [5] Domblides, E. et. al. Efficient Methods for Evaluation on Ploidy Level of Cucurbita pepo L. Regenerant Plants Obtained in Unpollinated Ovule Culture In Vitro. *Horticulturae* 2022, 8, 1083.



Ускоренное выращивание (Speed Breeding) сои

В.Ю. Канунникова¹, Н.Ю. Свистунова¹, А.А. Кочешкова¹, А.О. Блинков¹, С. Радзенице¹,
М.Г. Дивашук¹

¹ ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва
vikysya211@mail.ru

Соя является одной из ключевых культур для производства белка и масла. Применение ускоренного выращивания в селекции сои может значительно повысить эффективность селекционной работы и ускорить создание новых сортов с улучшенными характеристиками, такими как урожайность, устойчивость к болезням и стрессовым условиям. Одним из направлений в селекции сои является получение гомозиготных линий, что позволяет усилить генетические характеристики растения и обеспечить их стабильное наследование в последующих поколениях [1]. Данная работа направлена на выявление оптимальных условий выращивания, которые способствуют сокращению вегетационного периода и ускорению созревания плодов.

В работе использовали сортообразцы сои с различными сроками созревания и типами роста. Исследования фотопериода позволили выявить эффективность использования короткого дня (10/14 ч день/ночь) для индукции раннего зацветания. Напротив, использование очень длинного дня (22/2 ч день/ночь) не показало своей эффективности: при различных температурных режимах и дозах минерального питания наблюдался очень поздний переход к генеративной фазе, растения проявляли сильный детерминантный тип роста, увеличивалось количество боковых побегов, завязавшиеся бобы часто осыпались. Для удобства работы с растениями проводится их пинцировка: верхушечный и боковые побеги мы удаляем, оставляя только 2–3 сформировавшихся боба. В связи с трудностями использования эмбриокультуры для сокращения времени созревания сои, мы применяем принудительное высушивание бобов. Использование перечисленных параметров позволило сократить срок от посева до получения готовых семян на 24–39 суток в зависимости от генотипа. Выращивание сои в условиях Speed Breeding позволило получить полноценные жизнеспособные семена со всхожестью 99%. Накопленный опыт позволил нам начать практические работы по гомозиготизации гибридов F₁ сои и внедрению маркер-ориентированной селекции в данную систему выращивания.

[1] Jan, S. A. Speed breeding methods for soybean improvement: recent advances / S. A. Jan, R. Tabassum, H. Bashir // Journal of Nutritional Health and Food Engineering. — 2022. — Vol. 12, No. 2. — P. 41–42. — DOI 10.15406/jnhfe.2022.12.00354.

Исследование выполнено при финансовой поддержке государственного задания № FGUM-2022–0007.



CRISPR/Cas9-опосредованный нокаут генов *SteIF4E-1* и *SteIF4E-2* картофеля *S. tuberosum* и его роль в развитии инфекции PVY

В.Д. Карлов¹, А.В. Нежданова², Н.Е. Злобин¹, М.В. Лебедева¹, А.В. Бабаков¹, А. М. Каминская²,
В.В. Таранов¹

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва

² Институт биоинженерии им. К.Г. Скрябина ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

v4slvk@yandex.ru

Среди Паслёновых картофель *S. tuberosum* получил наиболее широкое распространение в качестве сельскохозяйственной культуры. Основную угрозу для выращивания картофеля представляют поти-вирусные инфекции, борьбу с которыми осложняет вегетативный способ размножения культуры. Наибольший вред представляет вирус Y картофеля (PVY).

Ключевым для развития инфекции является этап рекрутирования вирусом растительного аппарата синтеза белка посредством взаимодействия вирусного белка VPg с фактором восприимчивости — эукариотическим фактором инициации трансляции 4E (eIF4E) (Kang, 2005). Инактивация фактора восприимчивости или внесение определённых мутаций, нарушающих взаимодействие с VPg, позволяет обеспечить устойчивость растения к вирусной инфекции (Sato, 2005), (Ruffel, 2005). Ранее в нашей лаборатории было показано, что среди изоформ eIF4E картофеля наиболее предпочтительным партнёром для VPg является eIF4E-1 (Lebedeva, 2021). Более того, eIF4E-2 также показал способность связываться с вирусным белком, что может объяснять незначительное повышение устойчивости к PVY у картофеля *S. tuberosum* с нокаутированным геном *eIF4E-1* (Lucioli, 2022).

Опираясь на полученные данные, мы произвели нокаут генов *SteIF4E-1* и *SteIF4E-2* с помощью CRISPR/Cas9, чтобы оценить роль обеих изоформ в развитии инфекции. В результате трансформации картофеля сорта «Мишка» мы получили 3 растения из 13 трансгенных с нокаутом по гену *SteIF4E-1* и 48 растений из 74 трансгенных с нокаутом по гену *SteIF4E-2*. Инактивация гена подтверждалась секвенированием участка внесения индел-мутаций и, дополнительно, фрагментным анализом. Значительная разница в эффективности редактирования паралогичных eIF4E может говорить о разной степени их вовлечённости в процессы метаболизма растения, что, предположительно, повлияло на выживаемости редактируемых растений. В результате данной работы мы планируем оценить влияние индивидуальных нокаутов eIF4E на устойчивость картофеля к наиболее распространённым штаммам PVY.

- [1] Kang, B. C., Yeam, I., Frantz, J. D., Murphy, J. F., Jahn, M. M. (2005). The *pvr1* locus in *Capsicum* encodes a translation initiation factor eIF4E that interacts with *Tobacco etch virus* VPg. *Plant J.* 42, 392–405. doi: 10.1111/j.1365-313X.2005.02381.x
- [2] Lebedeva, M. V., Nikonova, E. Y., Terentiev A. A., Taranov, V. V., Babakov, A. V. and Nikonov, O. S. (2021). VPg of Potato Virus Y and Potato Cap-Binding eIF4E Factors: Selective Interaction and Its Supposed Mechanism. *Biochemistry (Moscow)* 86, 1128–1138. doi: 10.1134/S000629792109008X
- [3] Lucioli, A., Tavazza, R., Baima, S., Fatyol, K., Burgyan, J., Tavazza, M. (2022). CRISPR-Cas9 targeting of the *eIF4E1* gene extends the potato virus y resistance spectrum of the *Solanum tuberosum* l. cv. *desirée*. *Front. Microbiol.* 13. doi: 10.3389/fmicb.2022.873930
- [4] Ruffel, S., Gallois, J. L., Lesage, M. L., Caranta, C. (2005). The recessive potyvirus resistance gene *pot-1* is the tomato orthologue of the pepper *pvr2-eIF4E* gene. *Mol. Genet. Genom.* 274, 346–353. doi: 10.1007/s00438-005-0003-x
- [5] Sato, M., Nakahara, K., Yoshii, M., Ishikawa, M., Uyeda, I. (2005). Selective involvement of members of the eukaryotic initiation factor 4E family in the infection of *Arabidopsis thaliana* by potyviruses. *FEBS Lett.* 579, 1167–1171. doi: 10.1016/j.febslet.2004.12.086.

Работа выполнена при поддержке КПНИ «Развитие картофелеводства и семеноводства».



50 лет селекции тритикале в национальном центре зерна имени П. П. Лукьяненко

В.Я. Ковтуненко¹, В.В. Панченко¹, А.П. Калмыш¹

¹ ФГБНУ «Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко», Краснодар
xleborob123@yandex.ru

В 2024 году исполняется 50 лет селекционной работе по тритикале в Национальном центре зерна имени П. П. Лукьяненко, начатой в 1974 году. За этот период проделан большой путь от создания первичных тритикале и изучения коллекционного материала до экспериментально апробированной схемы селекции, разработки модели сортов озимых и яровых тритикале, создания сорок восьми сортов озимого и одиннадцати сортов ярового тритикале.

Вначале (1974–2001 гг.) работа сосредоточилась на изучении коллекции тритикале, твердой, мягкой пшенице и ржи. В связи с недостаточным генетическим разнообразием амфидиплоидов и отсутствием форм, полностью отвечающих требованиям производства, был сделан вывод о целесообразности использования отдаленной гибридизации для формирования собственного исходного материала. В результате этого полученные селекционные формы (комбинации 257 т и 170 т) послужили основой создания первых линий и сортов, родословные которых прослеживаются в материале до настоящего времени. (АД зеленый, Кубанец, Краснодарский зернокармальной, Конвейер, Славянин, Рус, Стрелец, Союз, Гренадер, Мир, Руслан). В этот период разработана селекционная программа, предусматривающая создание трех сортотипов: зернового, зернокармальной и кармальной направления использования.

Следующий этап селекции (2001–2019 гг.) связан с интеркроссом первичных тритикале и созданием ряда сортов с повышенной зерновой продуктивностью (Авангард, Хонгор и Патриот, Прорыв и Мудрец, Валентин 90, Лидер, Ярило, Сотник, Макар, Дозор, Брат, Князь, Жнец, Хлебороб, Берекет, Трудяга, яровые Ярило, Кунак, Ровня, Ярик). Особенностью этого периода стала целенаправленная, начатая в 2005 году, селекция яровых тритикале и привлечение их в гибридизацию с озимыми формами.

Третий этап селекции (с 2019 и по настоящее время) связан с расширением генетического разнообразия селекционного материала (увеличение объемов отдаленной гибридизации), работы на снижение высоты и устойчивости к полеганию, изменение архитектоники растений и с созданием сортов тритикале, конкурирующих с пшеницей, ячменем и рожью: Тихон, Улубий, Венец, Илия, Слон, Пахарь, Глеб, Сунгур, Гимн, яровые: Савва, Тимур, Орден, Явор, Хавр и ЮНАТ. В этот период решающее значение имеет сокращение периода вегетации, дальнейшее снижение высоты растения, повышение содержания белка и клейковины в зерне, формирование выполненного, натурального зерна пшеничного типа, устойчивость к болезням.

Для перехода на более интенсивный уровень агротехнологических условий возделывания тритикале, требуется решение проблемы устойчивости тритикале к полеганию путем создания низкорослых, адаптивных и высокопродуктивных сортов, отзывчивых на высокий уровень минерального питания и агротехники. Сочетание различных генов низкорослости в генотипе современных сортов и селекционных линий позволило нам снизить высоту растений до 105–110 см. Одним из путей решения проблемы снижения высоты растений тритикале является использование в селекционной работе наиболее изученных генов низкорослости — Rht-B1b и ржаного доминантного гена короткостебельности Ddw 1, обнаруженного у мутантной формы озимой ржи «ЕМ-1». Использование этих генов позволило значительно продвинуться в селекционной работе по снижению высоты растений озимой тритикале и повышению устойчивости к полеганию.

Созданные нами сорта тритикале служат донорами определенных признаков для селекции: продуктивности, наличие генов карликовости, безостости, высокого содержания белка, устойчивости к болезням, высокой зимостойкости, разной продолжительности вегетационного периода, физических свойств зерна.



Биотехнология сохранения коллекции *Beta vulgaris* L. *in vitro*

Е.О. Колесникова¹, С.В. Пономарева¹, Р.В. Бердников¹

¹ ООО «СоюзСемСвекла», пос. ВНИИСС, Рамонский район, Воронежская область

kolesnikovaeo@souzsemsvekla.ru

Beta vulgaris L. — экономически значимая культура, важным аспектом работы с которой является сохранение генетической базы уже созданных форм, либо образцов, представляющих ценность при получении новых гибридов, в селекции которых используется несколько компонентов, получаемых сложным путем [1]. Депонирование растительных образцов *in vitro* является наиболее ресурсосберегающим способом поддержания коллекций микроклонов, вследствие увеличения интервала между их пересадками [2, 3]. Для сохранения генетического разнообразия *Beta vulgaris* культивирование ценных экземпляров *in vitro* с использованием различных способов замедления скорости роста является одним из наиболее актуальных и приемлемых. Объектами исследования явились 20 генотипов *Beta vulgaris* различных селекционных форм. Для культивирования микроклонов применялись питательные среды по прописи MS, дополненные витаминами, сахарозой, агаром. В ходе выполнения работы было показано, что после 24 недель беспересадочного культивирования микроклонов сахарной свеклы при обычных условиях, количество живых растений составило 40%. Они имели в среднем 8,5 листьев с некрозом, по 5-балльной шкале оценивались на 3,2. Экспериментальное выявление условий для длительного поддержания растений сахарной свеклы *in vitro* позволило установить параметры (температура культивирования, световой режим, состав питательной среды) для сохранения жизнеспособными в среднем 83% образцов *Beta vulgaris* в течение длительного времени без пересадок. Некротические повреждения при этом составили 43–50% и не приводили к гибели растений. Общее состояние микроклонов на 168 день культивирования оценивалось на 3,6 баллов. Были отработаны условия для восстановления микроклонов сахарной свеклы после длительного беспересадочного периода культивирования. В течение 14 дней у микроклонов наблюдалось увеличение регенерационного потенциала, а через 28 дней после пересадки — развитие дополнительных побегов. Случаи аномального развития, соматической изменчивости, изменения ploidy не наблюдались. Восстановившиеся растения были пригодны для микрочеренкования с последующим новым циклом хранения. На основе полученных результатов была разработана технология длительного беспересадочного культивирования микроклонов сахарной свеклы, которая используется в настоящее время для поддержания коллекции *in vitro*, позволяя сохранять в живом виде селекционно-ценные генотипы.

- [1] Колесникова Е. О., Донских Е. И., Бердников Р. В. Биотехнологии гаплоидов как инструмент создания селекционного материала / Вавиловский журнал генетики и селекции. 2021; 25(8):812–821. DOI 10.18699/VJ21.094
- [2] Матушкина, О. В. Технология беспересадочного культивирования яблони и груши *in vitro* / Матушкина, О. В., Пронина, И. Н. // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК — продукты здорового питания. — 2016. — № 5 (13). — С. 31–37.
- [3] Blaich, R. Recherches sur les cultures de meristemes et d'organes de vinge *in vitro* en vue de la selection et de la conservation de genotypes / Blaich, R. // Bull O. I. V. — 1985. — Т.58. — № 650/651. — P. 391–395.



Получение трансгенных растений кукурузы с генетическими конструкциями CRISPR/Cas для индукции мутаций в гене *ameiotic*

А.Ю. Колесова¹, Л.И. Мавлютова¹, С.Х. Сарсенова¹, Г.А. Геращенко², Л.А. Эльконин¹

¹ Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока г. Саратов

² Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН г. Уфа

kolesovaau@yandex.ru

Экспериментальное создание линий и гибридов возделываемых растений, способных к апомиксическому размножению, в течение многих лет являлось целью работы исследователей апомиксиса. Использование генетической инженерии и геномного редактирования, как показывают результаты недавних исследований, открывает новые пути решения этой задачи. Как известно, одним из компонентов гаметофитного апомиксиса является наличие у растения генетически детерминированной способности к формированию нередуцированных женских гаметофитов — зародышевых мешков (ЗМ). Одним из механизмов, обуславливающих развитие нередуцированных ЗМ, является нарушение расхождения гомологичных хромосом в I делении мейоза в материнской клетке макроспор, в результате которого на ее основе формируются нередуцированные макроспоры (т. н. диплоспория). Как известно, одним из генов, контролирующих расхождение гомологичных хромосом в мейозе, является *ameiotic* (*dyad*), мутации в котором вызывают нарушение синапсиса и расхождения гомологов, что ведет к образованию нередуцированных гамет. В этой связи с целью получения мутантов, способных к формированию нередуцированных ЗМ, нами на основе бинарного вектора pVAtC, содержащего генетическую конструкцию CRISPR/Cas для сайт-направленного мутагенеза, были сконструированы вектора p09 и p10, у которых в сайт для гидРНК были встроены фрагменты нуклеотидной последовательности гена *ameiotic*. Данные вектора были введены в клетки *A. tumefaciens* (штамм AGL0), в результате чего были получены штаммы AGL0/p09 и AGL0/p10, с использованием которых были проведены эксперименты по трансформации незрелых зародышей кукурузы линии АТ ГПЛ, обладающей способностью к гаплоидному партеногенезу. В результате было получено 16 трансгенных растений (частота трансформации 4,4–11,5%), несущих генетические конструкции CRISPR/Cas. Такая сравнительно высокая частота трансгенных регенерантов может быть следствием высокой морфогенной активности линии АТ ГПЛ в культуре *in vitro*, связанной с ее способностью к партеногенезу. Среди растений T0 обнаружены индивидуумы с крупной фертильной пыльцой, с терминально расположенным початком вместо метелки, низкорослые формы.



Скрининг перспективных сортов мягкой пшеницы по устойчивости к возбудителям пятнистостей

Э.А. Конькова¹, Ю.В. Зеленева²

¹ ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока», Саратов 2ФГБНУ «Всероссийский институт защиты растений», Пушкин

baukenowaea@mail.ru

Ежегодный мониторинг фитосанитарного состояния посевов пшеницы в Саратовской области показывает активное развитие листовых пятнистостей и накопление их инфекционного потенциала. *Pyrenophora tritici-repentis* — возбудитель пиренофороза, или желтой пятнистости листьев, одной из опасных болезней пшеницы. *Bipolaris sorokiniana* — возбудитель темно-бурой пятнистости, потенциально опасного заболевания пшеницы. В настоящей работе, в результате комплексной полевой и лабораторной оценки 20 сортов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), возделываемых на территории Нижневолжского региона, впервые выявлены образцы, устойчивые к возбудителю пиренофороза, а также среднеустойчивые к возбудителю темно-бурой пятнистости. Мы впервые выявили статистически значимые различия между средними значениями показателей, полученных при полевой фитопатологической оценке сортов из разных групп устойчивости (RR, R, MS и S) к *P. tritici-repentis*. Цель работы — определение устойчивости сортов озимой и яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), возделываемых на территории Нижневолжского региона, к возбудителям желтой и темно-бурой пятнистостей и идентификация у растений доминантного/ рецессивного аллеля гена *Tsn1*. Скрининг изолятов на присутствие доминантного или рецессивного аллеля гена (*Tsn1/tsn1*) в генотипе сорта проводили методом ПЦР с парами праймеров Xfcp623F/Xfcp623R (ЗАО «Евроген», Россия). Доля сортов, устойчивых к изолятам *P. tritici-repentis*, способных продуцировать токсины, кодируемые генами *ToxA* и *ToxB*, составила 40%, к изоляту с геном *ToxA* — 55%, с *ToxB* — 60%. Доля сортов, показавшие среднюю устойчивость к *Bipolaris sorokiniana*, составила всего 15%. Наибольший интерес представляют генотипы трех сортов озимой мягкой пшеницы (Гостианум 237, Мироновская 808, Подруга) и пять генотипов яровой мягкой пшеницы (Фаворит, Прохоровка, Саратовская 70, Саратовская 73, Белянка), которые оказались устойчивы к пиренофорозу в лабораторных и трехлетних полевых испытаниях. При молекулярном скрининге этих сортов также подтвердилась невосприимчивость к PtrToxA, поскольку они несли *tsn1*, что указывает на их устойчивость к белку-токсину гриба PtrToxA. Указанные сортообразцы рекомендуются к использованию в селекционных региональных программах по повышению устойчивости пшеницы к возбудителям желтой и темно-бурой пятнистостей листьев.



Оценка аллельного состояния гена *Cwi-4A* в коллекции твердой пшеницы методом *KASP-анализа*

В.А. Коробкова¹, Д.С. Ульянов¹, А.С. Яновский², Л.А. Беспалова², М.А. Самарина¹, А.В. Архипов¹,
Г.И. Карлов¹, М.Г. Дивашук¹

¹ ФГБНУ ВНИИСБ, Москва

² ФГБНУ НЦЗ им. П.П. Лукьяненко, Краснодар

bowlingistka@gmail.com

Растущее население планеты и повышенный интерес к продуктам для здорового питания делает особенно востребованным зерно твердой пшеницы, которое, благодаря своему уникальному химическому составу, используется в различных отраслях пищевой промышленности. Создание новых сортов, обладающих отличным качеством и дающих стабильный высокий урожай, является одной из основных задач селекции. В формировании урожайности пшеницы значительная роль отводится инвертазе клеточной стенки (cell wall invertase). Ген *Cwi-4A* кодирует указанный фермент, способствующий преобразованию сахарозы в глюкозу, оказывающий влияние на массу зерна. Изучение коллекций твердой пшеницы с целью поиска образцов с благоприятным аллелем — один из важных этапов MAS-селекции. Эффективным способом массового генотипирования образцов выступает применение *KASP*-маркеров. *KASP*-анализ, основанный на конкурентной аллель-специфичной ПЦР, не требует проведения гель-электрофореза для визуализации полученных данных, так как детекция происходит непосредственно во время ПЦР, что значительно ускоряет и облегчает процесс анализа [1].

В наших исследованиях мы провели *KASP*-анализ на 495 образцах коллекции яровой и озимой твердой пшеницы, состоящей из сортов и перспективных селекционных линий с целью определения аллельного состояния гена *Cwi-4A*. В результате исследований нами получена информация о структуре коллекции, выявлены генотипы, обладающие ценным аллелем *Hap-4A-C*, ассоциированным с высокой активностью фермента и повышенной массой тысячи зерен.

- [1] Никитина Е. А., Архипов А. В., Минькова Я. В., Яновский А. С., Коробкова В. А., Самарина М. А., Черноок А. Г., Крупин П. Ю., Карлов Г. И., Дивашук М. Г. Конкурентная аллель-специфичная ПЦР (*KASP*): особенности, интерпретация результатов. Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. 2022;1(6):79–93. <https://doi.org/10.26897/0021-342X-2022-6-79-93>

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 21-16-00121.



Разработка генетической модели для исследования влияния полифенолоксидазы на качественные характеристики зерна ячменя (*Hordeum vulgare* L.)

А.М. Короткова¹, А.А. Егорова¹, К. Хертиг², И. Хоффи², С. Хикель², С.В. Герасимова¹, О.Ю. Шоева¹,
Й. Кумлен², Е.К. Хлесткина³

¹ ИЦИГ СО РАН, Новосибирск

² Институт генетики растений и исследований культурных растений им. Лейбница, Гатерслебен, Германия

³ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург

korotkova@bionet.nsc.ru

Полифенолоксидаза (ПФО) представляет собой фермент класса оксидоредуктаз, играющий важную роль в ответных реакциях растений на биотический стресс. Защитное действие ПФО реализуется при повреждении тканей в результате контакта данного фермента, локализованного в хлоропластах, с фенольными субстратами цитоплазмы. В ходе катализируемой ПФО реакции ферментативного потемнения происходит окисление фенольных соединений до высокорекреационноспособных о-хинонов, которые полимеризуются с образованием тёмно-коричневых пигментов — меланинов. Образующиеся при этом хиноны и активные формы кислорода оказывают токсическое действие на патогены и инициируют защитные реакции, однако они приводят к появлению сероватого оттенка на продуктах питания растительного происхождения, который снижает их привлекательность для потребителей. В последнее время получены данные об активности ПФО не только при ферментативном окислении при поранении, но и в интактных тканях, однако их точные функции в условиях отсутствия повреждений остаются невыясненными. В частности, не установлена роль ПФО в биосинтезе конститутивных тёмных пигментов оболочек семян, описанных для некоторых видов растений, включая ячмень.

Ранее в геноме ячменя были идентифицированы четыре гена семейства полифенолоксидаз (ПФО) [1] и показано их возможное участие в пигментообразовании в зерновке, однако влияние этих пигментов на качественные характеристики зерна изучено не было. Целью работы являлась разработка генетической модели для исследования роли ПФО в образовании темных пигментов в зерне ячменя и их влияния на его качество.

Путём нокаута соответствующего гена методом CRISPR/Cas планируется однозначно определить его функцию в синтезе меланина. Были сконструированы две генетические кассеты с парами направляющих РНК для разных участков гена-мишени. С их использованием проведена агробактериальная трансформация зародышей ячменя и получен ряд трансформантов T₀. Из поколения T₁, прогенотипированного методом NGS, отобраны мутанты для дальнейшего анализа.

Результаты работы расширят представления о молекулярных механизмах синтеза меланина у злаков, а также о влиянии данных пигментов на качественные характеристики зерна ячменя.

- [1] Glagoleva A. Y., Kukoeva T. V., Khlestkina E. K. and Shoeva O. Y. (2024) Polyphenol oxidase genes in barley (*Hordeum vulgare* L.): functional activity with respect to black grain pigmentation. *Front. Plant Sci.* 14:1320770. doi: 10.3389/fpls.2023.1320770.

Работа выполнена при поддержке РФФИ № 21-66-00012.



Изучение сортового генофонда яровой пшеницы Республики Татарстан по генетическим маркерам устойчивости к желтой ржавчине

В.В. Костенко¹, Н.Б. Баранова¹

¹ Казанский федеральный университет, Казань

vvkostenko1@gmail.com

В Республике Татарстан (РТ) мягкая яровая пшеница занимает одно из ведущих мест в полевых севооборотах и ежегодно засеивается на площади более 400 тыс. га. Повышение урожайности и улучшение качества зерна этой важнейшей культуры, в условиях рыночной экономики, имеет решающее значение в социально-экономическом развитии республики. Особую угрозу для посевов пшеницы представляют фитопатогенные заболевания, которые могут сокращать объем урожая до 90%. *Puccinia striiformis* возбудитель, вызывающий желтую (полосатую) ржавчину, чрезвычайно разнообразен благодаря высокой скорости мутации от авирулентности к вирулентности, адаптации к различным климатическим условиям, возникновению новых вирулентных, особо агрессивных рас. В настоящее время у пшеницы каталогизировано 84 гена устойчивости к желтой ржавчине (гены *Yr*), причем они в основном отвечают за устойчивость на всех стадиях (или всходов). Изучение генетического разнообразия сортового генофонда Республики Татарстан (РТ) в отношении маркеров устойчивости к желтой ржавчине ранее не проводилась. В этой связи цель данной работы — поиск и анализ генов устойчивости к желтой ржавчине у высокоурожайных сортов мягкой яровой пшеницы РТ.

В работе идентификацию генов *Yr5* (*S23M41* и *S19M93*), *Yr10* (*Xpsp3000*), *Yr15* (*Xgwm413*), *Yr17/Lr37/Sr38* (*Ventriup/LN2*) проводили для 25 высокоурожайных сортов мягкой пшеницы. Для 92% исследуемых сортов было выявлено наличие в генотипе маркера *S23M41*. Маркер *S19M93* был идентифицирован только в сортах Казанская Юбилейная и Надира, которые также имели маркер *S23M41*. Выявление *Yr10* гена устойчивости пшеницы по кодоминантному маркеру *Xpsp3000* позволило идентифицировать только аллель, дающую ампликон размером 240 п. н. у 48% анализируемых сортов. Наличие маркера *Xgwm413* было установлено для 32% тестируемых сортов яровой пшеницы. Для всех изучаемых сортов были получены отрицательные результаты идентификации молекулярного маркера *Ventriup/LN2*, ассоциированного с генами устойчивости к полосатой, листовой и стеблевой ржавчинам.

Результаты свидетельствуют о генетическом разнообразии данных сортов в отношении устойчивости к *P. striiformis*. Таким образом, выявление высокоэффективных *Yr* генов устойчивости к фитопатогену дает возможность защитить пшеницу и использовать в селекции для создания сортов, устойчивых к желтой и другим видам ржавчин.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).



Разработка набора SSR-маркеров для генетической паспортизации ячменя

П. Ю. Крупин^{1, 2}, М. А. Самарина^{1, 2, 3}, Д. С. Ульянов^{1, 2}, А. С. Ермолаев^{1, 2}, С. И. Воронов²,
Л. М. Ерошенко², Г. И. Карлов¹, М. Г. Дивашук^{1, 2, 3}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр «Немчиновка», Москва

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева», Москва

pavelkroupin1985@gmail.com

Ячмень (*Hordeum vulgare*) ценная, широкораспространенная сельскохозяйственная культура, востребованная в разных отраслях производства. Разработка новых сортов ячменя делает особенно значимыми задачи контроля качества и подлинности семенного материала, а также анализ уже существующих сортов [1]. Паспортизация и получение базы сортов с изученной генетической структурой позволит селекционерам выбирать наиболее генетически удаленные родительские формы для скрещивания с целью создания новых высокоэффективных сортов. Использование высокополиморфных SSR-маркеров для паспортизации — один из наиболее распространенных и эффективных методов, позволяющий создать паспорт для дискриминации (идентификации) как сортов между собой, так и биотипов внутри полиморфных сортов, обеспечивающих их высокую адаптивность [2].

Первый этап разработки набора дискриминирующих маркеров заключался в создании базы из 634 известных микросателлитных локусов с рекомендованными праймерами, с которыми далее была проведена *in silico* ПЦР на аннотированных сборках генома *H. vulgare* из базы NCBI GenBank. Далее в анализе были использованы только маркеры, показавшие высокую специфичность, продукт амплификации которых был менее 800 пар нуклеотидов для каждой изборок генома. Дальнейшая работа с отобранным на этапе биоинформатического анализа набором локусов заключалась в индивидуальной оценке каждой пары праймеров, детектирующей данные локусы, по ряду параметров: температура отжига, GC-состав, наличие неспецифичного отжига, димеры праймеров, их оптимизации для дальнейшего объединения отобранных маркеров и проведения мультиплексной ПЦР.

Выделение ДНК проводили с помощью станции для автоматического выделения нуклеиновых кислот Auto-Pure 96 (Allsheng, Китай) набором «МагноПрайм ГМО» (Интерлабсервис, Россия) согласно протоколу производителя. ПЦР-амплификацию осуществляли по единому для всех пар праймеров режиму в стандартной ПЦР-смеси (Mg2+ 2.5мМ, dNTP 0.25мМ). Продукты амплификации визуализировали методом капиллярного электрофореза с помощью генетического анализатора Нанофор05 (ИАП, Синтол, Россия).

В результате проведенного исследования были разработан биоинформатический алгоритм для анализа и отбора молекулярных маркеров, а также сформирован минимальный дискриминирующий набор из 18 SSR-маркеров для однозначной дискриминации сортов ячменя. Отобранные маркеры показали высокую специфичность амплификации и были объединены в смесь праймеров для использования в мультиплексной ПЦР.

[1] Chen Z.-W. et al. Genetic diversity analysis of barley landraces and cultivars in the Shanghai region of China // Genet Mol Res. 2012. Vol. 11, № 1. P. 644–650.

[2] Ordon F. et al. Molecular assessment of genetic diversity in winter barley and its use in breeding // Euphytica. 2005. Vol. 146, № 1. P. 21–28.

Исследование было проведено при финансовой поддержке Государственного задания № FGGE-2023–0004.



Видоспецифические признаки и скороспелость пшениц: анализ наследования и генетический контроль

Ю. В. Кручинина¹

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия
kruchinina2023@yandex.ru

Изучение наследования видоспецифических морфологических признаков архитектуры колоса у растений пшеницы позволит оптимизировать выделение классификационных признаков на всех уровнях пloidности рода *Triticum* L. Применение обученной нейронной сети и базы данных (БД), построенной на её основе, позволит производить автоматизированное установление видов пшеницы, что является актуальной задачей для высокопроизводительного фенотипирования.

Цель исследования — изучение характера наследования видоспецифических признаков растений пшеницы и определение их генетического контроля для дальнейшего использования в автоматизированном разделении видов с целью построения БД.

Материалы и методы В качестве исходного материала были использованы ди-, тетра- и гексаплоидные виды пшеницы, а именно их скороспелые формы, в связи с лучшей выраженностью у них видоспецифических признаков. Произведена гибридизация тетраплоидных видов пшениц с целью получения гибридов F_1 и F_2 . Гипотезы о характере наследования видоспецифических признаков оценивали с помощью метода хи-квадрат (χ^2).

Результаты Признаки, представляющие наибольший интерес при изучении архитектуры колоса: спельтоидность, компактность, круглозёрность и ветвистоколосость, а также наличие остей — были введены в БД. На основании данного исследования был составлен алгоритм, с помощью которого стало возможным предсказывать тип пloidности.

Выводы Видоспецифические признаки, изученные на межвидовых гибридах, могут являться модельными для построения нейронных сетей и машинного обучения, что поможет актуализировать информацию для продолжения построения БД.

- [1] Кручинина Ю. В. Систематика рода *Triticum* L.: история изучения и вектор развития. / Ю. В. Кручинина // Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции. — 2023. — Т. 9. — № 3. — С. 162–171.
- [2] Artemenko N. V. Image-based classification of wheat spikes by glume pubescence using convolutional neural networks. / N. V. Artemenko, M. A. Genaev, R. Ul. Epifanov, E. G. Komyshev, Y. V. Kruchinina, V. S. Koval, N. P. Goncharov, D. A. Afonnikov // Front. Plant Sci. — 2024.

Работа поддержана бюджетной темой РНФ 22-16-20026.



Меристемные регуляторы в развитии запасающего корня у редиса посевного (*Raphanus sativus* L.)

К.А. Кузнецова¹, И.Е. Додуева¹, Л.А. Лутова¹, А.М. Афонин², Л.Г. Данилов¹, М.С. Ганчева¹,
В.Е. Творогова¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологии, Санкт-Петербург

² Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Пушкин,
Санкт-Петербург
kskuz95@mail.ru

Корнеплодные культуры, к которым относится редис посевной, входят в число наиболее массово культивируемых сельскохозяйственных растений, поэтому изучение генетических механизмов развития запасающего корня является значимым для решения задач генетики растений. В основе формирования запасающего корня лежит работа генов, контролирующей активность латеральной меристемы камбия, а также координация ответа на различные внешние сигналы и метаболические изменения [1]. Система WOX–CLAVATA, включающая в себя пептиды семейства CLAVATA3/EMBRYO SURROUNDING REGION (CLE), их рецепторы, а также мишени их действия — гены, кодирующие гомеодомен-содержащие транскрипционные факторы (ТФ) семейства WUSCHEL-RELATED HOMEOBOX (WOX) [2,3], является одним из важнейших регуляторов активности камбия.

В СПбГУ поддерживается генетическая коллекция инбредных линий редиса, контрастных по различным признакам, в том числе — по способности к формированию запасающего корня [4]. Нами впервые была осуществлена сборка геномов двух близкородственных линий генетической коллекции редиса. В полученных сборках геномов были идентифицированы компоненты систем WOX–CLAVATA, в том числе WOX4, WOX14 и CLE41. Показано, что исследуемые линии различаются по однонуклеотидным заменам и инсерциям/делециям, находящимися в кодирующих частях генов, приводящими к сдвигу рамки считывания и влияющими на структуру белка. Получены растения с измененным уровнем экспрессии генов *RsCLE41*, *RsWOX4* и *RsWOX14*, характеризующиеся измененным анатомическим строением корня [5]. При количественном анализе экспрессии генов у растений со сверхэкспрессией *RsCLE41* выявлены ранее неизвестные мишени *RsCLE41* — гены, ассоциированные с детерминацией клеток ксилемы и защитой от засухи [6]. Количественный анализ экспрессии генов у растений с измененным уровнем *RsWOX4* позволил составить список предполагаемых генов-мишеней ТФ *RsWOX4*. С помощью дрожжевой одногибридной системы впервые было показано взаимодействие гомеодомена ТФ WOX4 с участком промотора гена *RsLOG3*, регулирующего биосинтез цитокининов.

В работе использовано оборудование ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» Научного парка СПбГУ.

- [1] Кузнецова К. А., Додуева И. Е., Паутов А. А., Крылова Е. Г., Лутова Л. А. Генетический контроль развития запасающего корня. Физиология растений. 2020; 67: 589–605.
- [2] Tvorogova V. E., Krasnoperova E. Y., Potsenkovskaia E. A., Kudriashov A. A., Dodueva I. E., Lutova L. A. [What Does the WOX Say? Review of Regulators, Targets, Partners]. Mol Biol (Mosk). 2021 May-Jun;55(3):362–391. Russian.
- [3] Kuznetsova, K., Efremova, E., Dodueva, I., Lebedeva, M., Lutova, L. Functional Modules in the Meristems: «Tinkering» in Action. Plants. 2023, 12, 3661.
- [4] Бузовкина И. С., Лутова Л. А. Генетическая коллекция инбредных линий редиса: история и перспективы. Генетика. 2007; 10: 1411–1423.
- [5] Kuznetsova K. A., Dodueva I. E., Lutova L. A. The homeodomain of the *Raphanus sativus* WOX4 binds to the promoter of the *LOG3* cytokinin biosynthesis gene. 2024. In press.
- [6] Kuznetsova K., Dodueva I., Gancheva M., Lutova L. Transcriptomic Analysis of Radish (*Raphanus sativus* L.) Roots with *CLE41* Overexpression. Plants (Basel). 2022. 20;11(16):2163.

Исследования поддержаны грантом Министерства образования РФ на создание научного центра мирового класса «Агротехнологии будущего» (соглашение No 075-15-2022-322 от 22.04.2022).



Профиль экспрессии генов биосинтеза антоцианов в клубнях сортов картофеля *Solanum tuberosum*, контрастных по окраске клубней

А. В. Кулакова¹

¹ ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

kulakova_97@mail.ru

Антоцианы относятся к водорастворимым флавоноидам и представляют собой вторичные метаболиты, которые синтезируются и накапливаются в вакуолях клеток растений. Данные пигменты играют значимую роль в защите растений от оксидативного стресса. У растений путь биосинтеза антоцианов высоко консервативен. Клубни картофеля *Solanum tuberosum* L. (основной овощной культуры) могут синтезировать антоцианы, что сказывается на окраске кожицы и/или мякоти и стрессоустойчивости.

В данном исследовании клубни картофеля семи сортов, различающиеся по окраске (от белой до темно-фиолетовой — Барин, гибрид 6, гибрид 4, гибрид 7, Сапфир, гибрид 1, Северное сияние), были охарактеризованы по содержанию антоцианов и профилю экспрессии структурных (*CHS2*, *CHI*, *F3H*, *DFR*, *F3'5'H*, *ANS*) и регуляторных (*GL3*, *bHLH137*, *MYB75*, *HY5*) генов пути биосинтеза флавоноидов.

Было показано, что клубни сортов различаются по количеству антоцианов в мякоти, что положительно коррелировало с интенсивностью фиолетовой окраски мякоти. Проведенный анализ экспрессии структурных генов флавоноидного пути показал, что только для сравнения образцов «белый vs. фиолетовый» наблюдается зависимость количества антоцианов/окраски мякоти клубня от уровня мРНК. При рассмотрении двух генов антоцианового пути (*DFR*, *ANS*) искомая зависимость была обнаружена для четырех образцов (Барин, Сапфир, гибрид 1, Северное сияние), тогда как другие три образца (гибриды 6, 4, 7) не вписывались в общую корреляцию, но внутри своей группы ее показывали. Также зависимости не было выявлено для регуляторных генов, включая сопоставление «белый vs. фиолетовый», что может быть следствием участия исследуемых транскрипционных факторов в регуляции активности не только генов флавоноидного пути, но и многих других генов и процессов у картофеля.

В целом, в работе впервые была охарактеризована активность ключевых структурных и регуляторных генов пути биосинтеза антоцианов у линейки сортов, различающихся окраской мякоти клубней и содержанием в ней антоцианов. Это существенно дополняет известные данные по экспрессии этих генов в запасающих органах и может быть использовано в селекции цветного картофеля.

Работа выполнена при поддержке ФНТП развития сельского хозяйства РФ на 2017–2025 гг. (подпрограмма «Развитие селекции и семеноводства картофеля в Российской Федерации»).



Отдаленная гибридизация овса как метод интродукции генетического материала диких и культурных видов в геном *A. sativa*

Е. Н. Кулинкович¹, Н. Л. Ермоленко¹, И. Н. Сеница¹

¹ РУП «НПЦ НАН Беларуси по земледелию»

enkulinkovich@mail.ru

УДК 633.13:631.527.5

Аннотация. Изучена коллекция образцов овса с разным уровнем ploидности по морфобиометрическим показателям. Проведена межвидовая гибридизация овса посевного с диплоидными, тетраплоидными и гексаплоидными видами по 143 комбинациям. Методом эмбриокультуры *in vitro* было выделено 462 гибридных зародыша. Получено 25 жизнеспособных фертильных растений. По результатам комплексного изучения созданного исходного материала были выделены хозяйственно-ценные образцы овса — 47–7, 47–9, 48–5, 49–11 и 106–6, которые включены в дальнейший селекционный процесс.

Овёс — значимая сельскохозяйственная культура, характеризующаяся повышенным содержанием незаменимых аминокислот, жиров, витаминов и биологически активных соединений. Интенсивная селекционная работа сузила генофонд возделываемых сортов, поэтому для получения нового признака, не встречающегося в пределах этого вида, можно использовать метод межвидовой гибридизации с передачей признаков путем генетической рекомбинации.

Исследования проводили в отделе биохимии и биотехнологии РУП «НПЦ НАН Беларуси по земледелию» в 2017–2023 гг. Межвидовые гибриды получали как в полевых условиях, так и в условиях ФТК. Была проведена межвидовая гибридизация овса посевного с диплоидными, тетраплоидными, гексаплоидными видами по 143 комбинациям. В качестве материнской формы использовали образцы диких видов овса. Завязываемость гибридных зерен варьировала от 0 до 55,5%.

Для преодоления постгамной несовместимости и сохранения зародышей использовали эмбриокультуру *in vitro*. Для преодоления стерильности производили удвоение наборов хромосом методом вакуум-инфильтрации. Полноценные регенеранты и фертильное семенное потомство были получены только у 25 растений. Созданные межвидовые гибриды размножались в течение двух лет, в результате постоянного расщепления было отобрано и изучено более 600 линий. Для установления гибридности полученных растений проведено исследование полиморфизма авенинов. На основании полученных данных сделан вывод, что гибридизация проведена успешно и все проанализированные линии являются потомством гибридов *A. strigosa* × *A. sativa*, т. к. для них было характерно наличие характерных как материнских компонентов (*Rf* 31, 38, 39), так и отцовских (*Rf* 51–61) [1].

По результатам проведенных исследований и отборов были выделены скороспелые генотипы, с высокой урожайностью и качеством зерна, устойчивые к красно-бурой пятнистости: 49–4, 49–10, 49–11, 105–2, и 106–6. Селекционная оценка полученного материала в контрольном питомнике 2023 года позволила подтвердить их хозяйственно-ценные качества.

Установлено, что большинство образцов, отобранных по массе 1000 зерен (40,6–45,0 г), превосходили контрольный сорт Мирт (37,5 г). Аналогичная тенденция отмечена по содержанию белка в зерне — 13,6% у контроля и 14,1–15,3% у лучших образцов. По урожайности зерна образцы 49–4, 49–10, 49–11, 105–2 и 106–6 превосходили контроль на 0,8–5,8 ц/га по отношению к контролю в блоке.

[1] Изучение генетического полиморфизма у клонированных форм межвидовых гибридов овса методом электрофореза авенинов / Е. Н. Кулинкович, Е. Л. Долгова, И. Н. Сеница, С. Н. Шеваишева // Земледелие и селекция в Беларуси: сб. науч. трудов / РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию». — Минск: УП «ИВЦ Минфина», 2021. — Вып. 57. — С. 308–315.



Изменение транскриптомного профиля контрастных генотипов дуба черешчатого под влиянием засухи

В.Г. Лебедев¹, Т.С. Тихомирова¹, Т.А. Гродецкая², П.М. Евлаков², А.А. Попова², К.А. Шестибратов¹

¹ Филиал Института биоорганической химии имени акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пущино, Россия

² Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова, Воронеж, Россия

vglebedev@mail.ru

Дефицит воды является одним из основных стрессов, ограничивающих рост и развитие растений, включая лесные деревья. В России проблема засухоустойчивости приобретает особую актуальность на южной границе распространения лесов (лесостепная зона), где недостаток влаги приводит к их деградации, включая ценные дубовые насаждения. Понимание генетических механизмов, лежащих в основе реакции на стресс, вызванный засухой, необходимо для выбора устойчивых генотипов дуба с целью лесовосстановления. Сравнительная геномика является многообещающим средством раскрытия молекулярных механизмов, лежащих в основе таких сложных признаков, как устойчивость к засухе. В тепличном эксперименте, по оценке реакции на дефицит воды, мы использовали семена контрастных форм дуба черешчатого (*Quercus robur* L.). Засуху имитировали снижением предельной полевой влагоемкости субстрата с 80–85% (контроль) до 40–45% в течение шести недель. Для транскриптомного анализа методом RNAseq отбирали образцы листьев дуба с контрольных и опытных растений до и после засухи. Секвенирование транскриптома проводили с помощью NovaSeq 6000 (Illumina). Секвенировали по 101 п. о. и качество секвенирования составило не менее 87,5%. Графики вулкана продемонстрировали логарифмическое изменение экспрессии генов в различных парах сравнения. Анализ дифференциальной экспрессии генов показал, что для генотипа 233.57 снизилась экспрессия у 209 генов и возросла — у 106 генов, а у генотипа 339.57 снизилась экспрессия у 688 генов и возросла — у 333 генов. Анализ обогащения функциональных групп позволил выявить процессы, физиологически связанные с реакцией растений дуба на засуху. Полученные результаты могут быть использованы для оценки засухоустойчивости генотипов дуба и разработки селекционных программ на адаптацию лесных пород к условиям изменения климата.

Работа была поддержана Российским научным фондом (грант № 22-64-00036).



Агроинфильтрация картофеля: насильно мил (не)будешь

М.В. Лебедева¹, М.Н. Полякова¹, В.В. Таранов¹

¹ *Всероссийский Научно-Исследовательский Институт Сельскохозяйственной Биотехнологии, Москва*

marilistik@mail.ru

Агроинфильтрация — метод транзientной экспрессии с помощью агробактерий, не требующий встройки области Т-ДНК в геном растения. Сфера применения этого подхода очень широка, так как многие методы, например, ViFC, VIGS, VIGE, включают в себя этап агроинфильтрации. Однако протоколы, обеспечивающие высокую эффективность экспрессии, разработаны только для небольшого числа растений.

Картофель — важная сельскохозяйственная культура. Существующие протоколы агроинфильтрации картофеля очень трудоёмки и показывают эффективность на ограниченном числе генотипов. Для разработки более универсального протокола требовалось решить две основные проблемы — успешное проникновение суспензии агробактерий в ткани растения и подавление РНК-сайленсинга, который блокирует экспрессию целевых генов. Кроме того, важно не травмировать растение в процессе инфильтрации. В данной работе были протестированы разные условия и создан простой протокол агроинфильтрации, показавший высокую эффективность на нескольких сортах культурного картофеля.



Зимостойкость и продуктивность линий озимого ячменя в ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока»

С.В. Лящева¹, А.Д. Заворотина¹, Н.Ю. Ларионова¹, Т.Ю. Якушова¹

¹ ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока», г. Саратов

lyaschevasveta@yandex.ru

Озимые культуры имеют ряд преимуществ перед яровыми: растянутость вегетативного периода с возможностями использовать более продуктивно осадки осени и зимы, высокий потенциал продуктивности, раннее созревание культур позволяет растягивать время уборки в хозяйствах, снижая нагрузку на технику. Озимый ячмень представлен в основном шестьюрядными формами, у которых все шесть сидящих рядом колосков являются плодущими, в отличие от ярового, преимущественно двухрядного, четыре колоска при этом редуцированы до колосковых чешуй. Высокий потенциал урожайности озимого ячменя — причина повышенного интереса к этой культуре. Для озимого ячменя наиболее лимитирующим фактором является зимостойкость. Сохранение 40–50% растений на делянке позволяет восстановить продуктивный стеблестой и достичь 70–80% от потенциальной урожайности. Коэффициент кущения в благоприятных условиях в отсутствие конкуренции между растениями достигал в ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока» 28–35 стеблей. Экологическое испытание сортов южной селекции в 2010-х годах не выявило стабильно зимующих в условиях г. Саратова генотипов.

В течение 2019–2023 гг. в ФГБНУ «ФАНЦ Юго-Востока» изучались линии озимого ячменя, представленные ФГБНУ «Самарский НИИСХ» в сравнении со стандартным сортом Жигули и сортом озимой пшеницы Калач 60. Площадь делянки — 10 м², повторность трехкратная. Агротехника соответствует зональным рекомендациям.

Корреляция между зимостойкостью и урожаем зерна составила в среднем за годы изучения 0,89. Наибольшая гибель растений зимой отмечена в 2020 и 2023 гг. В первом случае ряд линий частично восстановил стеблестой за счет кущения, в 2023 году четыре линии полностью вымерзли. Максимальная урожайность получена в 2021 году с варьированием от 1,97 т/га у линии 1243–21 ВолгоДон/Ростовский 55 до 2,75 т/га у линии 1235–21 Д224–08 ВИР/ Жигули(НСР05 0,34). Наименьший урожай зерна сформировался в 2023 году из-за резкого перепада температуры воздуха с 4 °С до — 28 °С в течение всего четырех часов на фоне бесснежья в середине зимовки и составил всего 0,4–0,9 т/га (НСР05 0,02).

Содержание протеина в условиях естественного плодородия варьировало от 7 до 9,65%, на фоне N30 — от 8,5 до 10,4%, что предполагает возможное использование данных линий в пивоваренном направлении. Варьирование признака «содержание крахмала» изменялось в первом случае от 56,7 до 64,1%, во втором — от 63,0 до 67,2%. Отмечена отрицательная взаимосвязь признаков с урожайностью.

По результатам исследований в качестве исходного материала для селекции озимого ячменя, сочетающего зимостойкость и продуктивность, выделены следующие сорта (Жигули, Садко) и линии (1231–21Квант Параллелум 182/16 ио Садко М-4, 1236–21 Д224–08 ВИР/Жигули, 1238–21 Волжский 1/Ростовский 55, 1240–21 Волжский 1/Жигули, 1241–21 ВолгоДон/ Ростовский 55, 1244–21 ВолгоДон/ Ростовский 55).Сорт Жигули характеризуется высоким коэффициентом кущения (2,6), высота растения 69,3 см, длина колоса 3,6 см, индекс продуктивности 0,38. Выделенные линии различались по высоте растения от 63,9 (1240–21) до 78,2 см (1244–21), продуктивному кущению от 1,5 (1240–21) до 3,35 (1236–21), длине колоса от 2,92 (1231–21) до 4,7 см (1244–21), количеству продуктивных колосков от 13,5 (1240–21) до 17,05 (1244–21). По индексу продуктивности все линии уступали сорту Жигули, наилучший результат получен у линии 1241–21 (0,36).



Генетическая природа диплоидных растений, развивающихся из выполненных зерновок в разноплоидных скрещиваниях ($2n \times 4n$) у линии кукурузы АТ, склонной к гаплоидному партеногенезу, и её гибридов

Л.И. Мавлютова¹, А.Ю. Колесова¹, Л. А Эльконин¹

¹ Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока, Саратов

lidia.bahteewa@yandex.ru

Важным компонентом апомиктического размножения у растений является формирование нередуцированных зародышевых мешков (ЗМ). Гетероплоидные скрещивания — эффективный инструмент для выявления способности к формированию таких ЗМ у кукурузы. Известно, что при опылении диплоидных растений пыльцой тетраплоидов формируются щуплые зерновки вследствие отклонения баланса материнского и отцовского геномов в эндосперме от соотношения $2m:1o$; формирование зерновок с полноценным эндоспермом у кукурузы в скрещиваниях $2n \times 4n$ возможно только на основе диплоидных ЗМ. В наших экспериментах у линии АТ, склонной к гаплоидному партеногенезу, а также у гибридов с её участием, в скрещиваниях $2n \times 4n$ обнаружено формирование выполненных зерновок, дающих диплоидные, фенотипически матроклинные растения или тетраплоидные гибриды. Для уточнения генетической природы таких диплоидных растений нами проведено их генотипирование по всем 10 хромосомам кукурузы с помощью полиморфных SSR- и Indel-маркеров, дифференцирующих отцовскую линию от материнских линий. У исследованных растений при использовании маркеров пяти хромосом (1, 2, 3, 4 и 9) наблюдалась амплификация только материнских аллелей. Однако у каждого из изученных растений были отмечены случаи амплификации аллелей отцовской линии (5, 6, 7, 8, 10 хромосомы), что, возможно, свидетельствует о формировании диплоидов в $2n \times 4n$ скрещиваниях у кукурузы на основе оплодотворения нередуцированных ЗМ и последующей элиминации хромосом преимущественно отцовской линии. Анализ плоидности эндосперма с помощью проточной цитометрии показал, что в эндоспермах большинства зерновок 1-й пик флюоресценции наблюдался при значениях, в два раза превышающих таковые в эндосперме диплоидов (3С), и соответствовал 6С. Такой результат наблюдался у эндосперма зерновок, из которых были получены как матроклинные диплоиды, так и тетраплоидные гибриды. Возможно, эндоспермы в таких зерновках развивались на основе слияния нередуцированных полярных ядер ($2n + 2n$), оплодотворенных диплоидным спермием ($2n$). Полученные данные подтверждают гипотезу о развитии выполненных зерновок в скрещиваниях $2n \times 4n$ у кукурузы на основе нередуцированных ЗМ — существенного компонента апомиксиса.



Эволюция урожайности, устойчивости к стрессам и качества зерна, яровой твердой пшеницы в процессе селекции в Самарском НИИСХ

П.Н. Мальчиков^{1,2}, М.Г. Мясникова²

¹ Самарский ФИЦ РАН, Самарский НИИСХ им. Н.М. Тулайкова, Россия

² ФИЦ Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия

sagrs-mal@mail.ru

Селекция яровой твердой пшеницы в Самарском НИИСХ непрерывно ведется в течение 112 лет (с 1912 года). За это время было создано 27 сортов с коммерческим значением, в том числе в XX веке — 10, в XXI веке — 17. Основным направлением селекции была адаптивность. Отбор из местных сортов на первых этапах позволил улучшить урожайные свойства на 5,0% по отношению к исходным формам. Первая трансгрессия по урожайным свойствам с превышением стандарта на 20–25,0% представлена фенотипом Леукурум 33 и фенотипами других сортов от скрещивания Мелянопус 212/Гордеiforme 1717, что рассматривается как начало формирования в Среднем Поволжье коадаптированного блока генов. Его усложнение произошло вначале при объединении генетических пулов (блоков генов) из Безенчука и Харькова при гибридизации Харьковской 46 с Безенчукская 105, затем при использовании сортов НИИСХ Юго-Востока — Саратовской золотистой и Валентины. Все современные сорта безенчукской селекции, за исключением Безенчукской нивы, имеют в своей родословной все эти три ветви. Тренд урожайности за последние 30 лет составил 0,95% в год. В структуру генеалогического древа на разных этапах его формирования были включены иностранные образцы из коллекции ВИРа: Russello-к-45057 (Италия), Anhinga-к-49931 (Мексика), Wells-к-44422 (США), USMP-13-к-48127 (США), к-46995 (*T.dicoccum*), ИТ-3 (образец мягкой пшеницы с транслокацией от *T.timopheevii*), к-1919 (*T.dicoccum*). С участием этих генотипов создано 16 коммерческих сортов, которые в настоящее время находятся в реестре селекционных достижений. Эксплуатация всего комплекса сортов предусматривает формирование диверсифицированной, комплементарной системы сортов с взаимной компенсацией негативных свойств её компонентов, с максимальной эффективностью использующей ресурсы среды. В рамках этой парадигмы созданы сорта разных типов: Триада — низкорослый (*RhtB1b*); Безенчукская 210, Безенчукская золотистая, Безенчукский подарок — среднерослые сорта, все несут ген *RhtAnh*; Безенчукская крепость, Безенчукская 205, Безенчукская нива, Алазар — среднерослые на основе полигенной системы контроля высоты; Безенчукская 205, Марина, Таганрог — сорта с выполненной соломиной; Безенчукская 205, Безенчукская крепость, Таганрог, Безенчукская нива, Триада — устойчивые к мучнистая росе, стеблевой, бурой ржавчине, пыльной, твердой головне, фузариозу и пиренофорозу листьев; Триада, Безенчукский подарок, Таганрог, Алазар — с высоким качеством клейковины (ИГ = 80–100%); Безенчукская золотистая, Безенчукская 210, Безенчукская крепость, Таганрог, Алазар — засухоустойчивые сорта с высоким содержанием пигментов в зерне (7–8 ppm). В настоящее время в качестве дополнительных приоритетов в селекции реализуются программы по расширению изменчивости сортовой системы по вегетационному периоду и содержанию в зерне макро-и микроэлементов с целью повышения питательной ценности.

Исследование выполнено при поддержке гранта Российского научного фонда № 23-16-00041 (<https://rscf.ru/project/23-16-00041/>).



Биологическая активность кукумопин-подобных соединений *Arachis hypogaea* L.

Н.А. Миргородский¹, Т.В. Матвеева²

¹ АНОО ВО «Университет «Сириус»

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет»

Arachis hypogaea L. — культурный Арахис, широковозделываемая сельскохозяйственная культура, всходит в список природно-трансгенных растений [1]. Его геном содержит интактные гомологи кукумопин-синтазы агробактерий [2]. На сегодняшний день остается неизученной биологическая активность этих кукумопин-подобных соединений. Наша работа нацелена на изучение влияния продуктов генов-гомологов кукумопин-синтазы, экспрессирующихся в *A. hypogaea* на рост микроорганизмов. В работе были использованы чистые культуры аскомицетов: *Candida tropicalis*, *C. albicans*, *Scheffersomyces shehatae*, *S. cryptocercus*, *Pachysolen tannophilus*, *Ogataea methanolica* и *Saccharomyces cerevisiae* из Петергофской генетической коллекции штаммов дрожжей. В питательную среду LB добавляли обогащенный опином экстракт, наработанный трансгенным штаммом *E. coli*, содержащим гомолог кукумопинсинтазы из арахиса [3]. В качестве контроля использовали ту же среду без опина. Сравнения скорости роста штаммов при +27 °С на контрольной и опытной среде проводили с использованием спектрофотометра FlexA-200 (ALLSHENG, China) при длине волны 630 нм. Опыт проводили в четырёхкратной повторности. Добавление кукумопин-подобного соединения в питательную среду проявило наибольший рост-стимулирующий эффект в отношении *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Ogataea Methanolica*, *Scheffersomyces cryptocercus*. Эти организмы могут стать моделью для изучения процесса метаболизма опинов и их биологической роли.

- [1] Matveeva T. V. New naturally transgenic plants: 2020 update // Biol Commun. 2021;66(1):36–46. DOI: 10.21638/spbu03.2021.105.
- [2] Matveeva T. V., Otten L. Opine biosynthesis in naturally transgenic plants: Genes and products // Phytochemistry. 2021;189:112813. DOI: 10.1016/j.phytochem.2021.112813.
- [3] Sokornova S. V., Alekseeva A. N., Shaposhnikov A. D., Matveeva T. V. Genetic engineering approaches to study of the opiines of natural GMOs // Ecological genetics. — 2022. — Vol. 20. — P. 33–34. DOI: 10.17816/ecogen112380.



Редактирование генома тритикале с использованием технологии CRISPR/Cas9

Д.Н. Мирошниченко^{1,2}, В.Р. Тимербаев^{1,2}, М.Г. Дивашук¹, А.С. Пушин^{1,2}, П.Ю. Крупин¹,
М. Самарина¹, А. Ермолаев¹, Г.И. Карлов¹, С.В. Долгов^{1,2}

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва

² Филиал Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пущино

miroshnichenko@bibch.ru

Редактирование генома растений путем внесения специфических модификаций, таких как замена, вставка или делеция нуклеотидов или отдельных последовательностей, может ускорить создание новых форм и сортов сельскохозяйственных культур. С использованием CRISPR/Cas9 подхода нами успешно разработана биотехнология редактирования генома гексаплоидной тритикале — важной зерновой культуры. Тритикале (\times *Triticosecale*) представляет собой гибрид ржи (*Secale*) и пшеницы (*Triticum*), геном которого состоит из трех субгеномов (AA, BB и RR). Четыре гена (*GBSSI*, *SSIIa*, *ISAI* и *RSR1*), участвующих в биосинтезе крахмала в зерне, были выбраны в качестве мишеней для мутагенеза. Для достижения редактирования каждого гена-мишени подобрали три направляющих РНК (sgRNA), чтобы обеспечить эффективное сайт-направленное редактирование во всех субгеномах. Для одновременного редактирования 36 генетических локусов (три sgRNA \times четыре гена \times три субгенома), сконструировали экспрессионную кассету в виде массива из двенадцати sgRNA и переносили в регенерирующие ткани тритикале с помощью генной пушки. Генотипирование растений-регенерантов показало, что эффективность редактирования генов составила 43–46% в двух коммерческих сортах, при этом явных различий в эффективности редактирования между локусами субгеномов А, В и R не наблюдали. Большинство индуцированных мутаций представляли собой незначительные делеции (1–4 нуклеотида); также присутствовали протяженные делеции (до 283 нуклеотидов) между соседними целевыми сайтами у различных мутантов. После самоопыления первичных мутантных растений идентифицировали гомозиготные суб-линии M_1 , несущие шесть модифицированных аллелей каждого из генов-мишеней. Зерна мутанта 19В, несущего моно- и биаллельные мутации в трех субгеномных копиях гена гранулированной синтазы крахмала *GBSSI*, демонстрировали нокаутный фенотип, характерный для семян со значительным снижением содержания амилозы. Разработанная нами система CRISPR/Cas9-опосредованного редактирования генома тритикале, которая обеспечивает редактирование одиночных и множественных геномных последовательностей, позволит ускорить создание новых селекционных форм, а также поможет сократить трудоемкое и долговременное пирамидирование желаемых аллелей/признаков при получении перспективных линий с новыми мутациями, обеспечивающими изменение состава и качества крахмала в зерне.

Исследования выполнены при поддержке «КГЦ-ВНИИСБ» (договор № 075-15-2019-1667).



Реакция генотипов мягкой пшеницы разных групп спелости на инокуляцию *Paenibacillus nicotianae* AFI2

Г.В. Мирская¹, В.Н. Пищик², О.П. Митрофанова³, А.В. Дементьев³, Ю.В. Хомяков¹, В.И. Дубовицкая¹,
В.Е. Вертебный¹, Н.И. Воробьев²

¹ ФГБНУ Агрофизический институт, г. Санкт-Петербург

² ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, г. Санкт-Петербург

³ ФГБНУ ФИЦ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова, г. Санкт-Петербург
galinanm@gmail.com

В связи с задачей экологизации земледелия особое внимание уделяется селекции растений на эффективное взаимодействие с бактериями, стимулирующими рост растений (PGPB), которое в значительной степени зависит от генотипа растения. Изучение генетического разнообразия сельскохозяйственных культур позволяет подбирать комплементарные пары *растение и PGPB* с целью повышения продуктивности в сочетании со снижением риска загрязнения окружающей среды.

В связи с этим целью наших исследований явилось изучение специфики яровой мягкой пшеницы различных групп спелости на инокуляцию PGPB N2-фиксирующего штамма *Paenibacillus nicotianae* AFI2 (*P. nicotianae* AFI2) [1] продуцента индолил-3-уксусной кислоты и гиббереллиновой кислоты.

Было оценено 18 образцов яровой пшеницы различного эколого-географического происхождения из коллекции ФГБНУ ФИЦ ВИР, отнесенные, на основании многолетних фенологических наблюдений по срокам созревания, к трем группам спелости: очень ранние и ранние, средние, поздние и крайне поздние. Исследования проводились в контролируемых условиях агробиополигона ФГБНУ АФИ при использовании режимов выращивания, обеспечивающих снижение модификации и повышение четкости проявления генотипической изменчивости по системам генов *VRN* и *PPD*, определяющих реакцию растений на яровизацию и длину дня и контролирующей скорость развития растений.

Сравнительное изучение генотипов, относящихся к разным группам спелости, по скорости развития, основным структурным элементам продуктивности, уровню фотосинтетических пигментов, содержанию макро-, микроэлементов и белка в зерне показало их неоднозначную реакцию на инокуляцию *P. nicotianae* AFI2. Установлено, что изучаемые генотипы пшеницы различались по степени реакции на бактериальную обработку. В группе отзывчивых образцов 67% относились к раннеспелым и 22% к позднеспелым генотипам, в группе образцов с нейтральной реакцией 22% и 44%, соответственно. У отзывчивых на инокуляцию генотипов (56% от общего количества) отмечено достоверное увеличение урожайности зерна (на 26–77%), сокращение сроков прохождения этапов онтогенеза (2–4 дня). Ранжирование сортов пшеницы по индексу FractCSI [2] позволило выделить генотипы с наиболее контрастной реакцией на инокуляцию *P. nicotianae* AFI2 по комплексу признаков (отзывчивые скороспелые: Красная Звезда, Эритроспермум Бахшальский 32/1; позднеспелый: Marhein; не отзывчивые скороспелые: Гуввали 17, Кызыл-Шарк; позднеспелые: Паллада, Penquite). Дифференциальная реакция различных генотипов пшеницы на инокуляцию PGPB *P. nicotianae* AFI2 обуславливает актуальность оптимизации сочетания «генотипа растения-бактериального штамма» для достижения более высокой продуктивности.

[1] Pishchik, V.N.; Filippova, P.S.; Mirskaya, G. V.; Khomyakov, Y. V.; Vertebny, V.E.; Dubovitskaya, V.I.; Ostankova, Y. V.; Semenov, A. V.; Chakrabarty, D.; Zuev, E. V.; Chebotar, V. K. Epiphytic PGPB *Bacillus megaterium* AFI1 and *Paenibacillus nicotianae* AFI2 Improve Wheat Growth and Antioxidant Status under Ni Stress. *Plants* 2021, 10, 2334.

[2] Vorobyov, N. I., Bogolyubova, N. V., Platonov, A. V., Nikonov, I. N., Selina, M. V., Guseynikova, A. A., Sidnev, N. Y. Effect of Feed Supplements on Blood Biochemical Parameters and Intensity of Metabolic Processes in Cows: the Neural Network Modeling Method. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences* 2023, 24, 165–170.



Аллельный скрининг контрастных по окраске корнеплода образцов свеклы столовой из коллекции ВИР

А. С. Михайлова¹, Д. В. Соколова¹, Р. С. Рахмангулов¹, Н. А. Швачко¹, В. С. Попов¹, Е. К. Хлесткина¹

¹ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44

a.mikhailova@vir.nw.ru

На сегодняшний день особую актуальность приобретает решение задачи по замещению импортируемых зарубежных красителей на растительные пигменты отечественного происхождения. В частности, свекла столовая (*Beta vulgaris* L.) является ценным сырьем в производстве беталаиновых пигментов. Благодаря широкому генетическому разнообразию образцов свеклы столовой, представленных в коллекции ВИР, сформирована признаковая группа с повышенным содержанием бетанина (Sokolova, Solovieva, 2019; Sokolova, 2022). Однако, согласно проведенному ранее биохимическому анализу, в корнеплоде свеклы столовой, несмотря на преобладающее содержание красных бетацианинов, присутствуют и желтые бетаксантины (Sokolova et al., 2022). С целью создания высокобеталаиновых форм в рамках данной работы проведен скрининг аллельных различий ключевых генов биосинтеза беталаинов у контрастных по окраске корнеплода образцов свеклы столовой из коллекции ВИР для выявления наиболее подходящих генов-кандидатов для геномного редактирования.

У образца сорта «Сердолик» с желтой окраской мякоти корнеплода мы впервые обнаружили нонсенс-мутацию в гене *CYP76AD1*, приводящую к усечению функционального домена P450, а также ряд миссенс-мутаций у образца «Аваланч» с белой окраской мякоти в первом экзоне гена *BvDODA1*, вероятно, ассоциированных с проявлением неокрашенного фенотипа. В ходе *in silico* анализа, на основании последовательности гена *CYP76AD5* (*CYP76AD5.2*), аннотированного ранее в хромосоме 9, идентифицированы тандемно дублированные высокогомологичные копии, *CYP76AD5.1* и *CYP76AD5.3*, которые, по предварительной оценке, вместе с геном *CYP76AD6*, являются наиболее подходящими генами-мишенями для нокаута с целью получения форм с более темной окраской мякоти корнеплода. Созданы конструкции для нокаута генов семейства цитохром P450 *CYP76AD5* и *CYP76AD6*. Методом биобаллистики, с использованием системы подачи частиц Biolistic PDS-1000/He (BioRad, США), трансформирована органогенная каллусная культура свеклы столовой. Полученные результаты позволят далее генотипировать популяцию трансформированных растений свеклы столовой с целью отбора индивидуальных растений для анализа и размножения. Результаты данного исследования также могут быть полезны в маркер-ориентированной селекции при отборе генотипов с заданными характеристиками.

1. Sokolova D. V., Solovieva A. E. Promising initial material for breeding of beet varieties with a high content of betanin. *Agrarian Russia*. 2019;8:26–32. doi: 10.30906/1999–5636–2019–8–26–32.
2. Sokolova D. V., Shvachko N. A., Mikhailova A. S., Popov V. S. Betalain Content and Morphological Characteristics of Table Beet Accessions: Their Interplay with Abiotic Factors. *Agronomy*. 2022;12(5):1033. DOI: 10.3390/agronomy12051033.

Работа выполнена при финансовой поддержке проекта российского научного фонда № 21-66-00012 «Создание с использованием генетических технологий и изучение новых линий растений, адаптированных к меняющимся условиям окружающей среды, обладающих повышенной продуктивностью и диетической ценностью».



Генетические ресурсы популяций чилима *Trapa* sp. на территории России

Е. В. Михайлова¹, М. А. Панфилова², А. Е. Артюхин²

¹ Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Уфа, Россия

² Уфимский государственный нефтяной технический университет, Уфа, Россия

mikhele@list.ru

Водяной орех (*Trapa* L.), который также называют чилимом — это уникальное реликтовое растение, которое со времен неолита использовалось человеком в пищу, но в последние годы было незаслуженно забыто [1].

Видовое и генетическое разнообразие чилима на территории России мало изучено и является предметом научных дискуссий. Согласно литературным данным, генетический полиморфизм у этого растения значителен на востоке Евразии, особенно на территории таких стран как Китай и Индия, где издревле проводилась селекция чилима, направленная на получение крупных плодов с редуцированными рогами. При этом морфологическое разнообразие велико у популяций *Trapa* L. на всей территории обитания.

За последние 2–3 года были секвенированы хлоропластные геномы восточных популяций, позволившие выявить полиморфные участки и найти подтверждение выделению в отдельные виды *T. natans*, *T. maximowiczii* и *T. incisa* [2]. Несколько меньшее генетическое разнообразие наблюдается и у других исследованных образцов, что позволяет изучать распространение чилима и сохранять генетические ресурсы этого ценного растения, в том числе путем совершенствования охранного законодательства.

Ранее нами проводилось исследование генетического полиморфизма популяций водяного ореха Южного Урала и Сибири, которое, однако, не позволило обнаружить оснований для выделения отдельных видов *T. sibirica* и *T. pectinata*, считающихся эндемиками Республики Башкортостан и Республики Алтай, соответственно [3]. Более интересные результаты дали наши последние исследования популяций Европейской части России, а именно Воронежской, Волгоградской и Астраханской области, где по некоторым данным произрастают эндемики *T. astrachanica* N. Wint., *T. caspica* (V. Vassil.) Tzvel. У ряда исследованных образцов была обнаружена уникальная мутация в межгенном спейсере *trnL-F* (инсерция трех нуклеотидов), отличающая их от образцов *T. natans*, у которых был просеквенирован хлоропластный геном [2], и не встречающаяся у растений из других регионов России и мира. Накопление данных о генетических ресурсах российских популяций чилима *Trapa* sp. позволит выявить уникальные местообитания и обеспечить их сохранение, а также вернуть интерес к этому растению, ранее имевшему важное хозяйственное значение.

- [1] Кулуев Б. Р., Артюхин А. Е., Шевченко А. М., Михайлова Е. В. Водяной орех плавающий *Trapa* L.: биология, ареал распространения и исследование его изолированных популяций в озерах Нуримановского района Республики Башкортостан // Биомика. 2017. Т. 9, № 2. С. 101–118
- [2] Fan, X., Wang, W., Wagutu, G. K. et al. Fifteen complete chloroplast genomes of *Trapa* species (Trapaceae): insight into genome structure, comparative analysis and phylogenetic relationships. BMC Plant Biol 22, 230 (2022). <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03608-7>.
- [3] Artyukhin A. E., Mikhaylova E. V., Kuluev B. R. Genetic variation of water caltrop (*Trapa* L.) in several Russian populations. Current Challenges in Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology. 2019;44–45. DOI: 10.18699/ICG-PlantGen2019-12.



Разработка молекулярных маркеров на гены *NLP 3* у *Triticum aestivum*

Т.Д. Мохов¹, А.А. Кочешкова¹, Я.С. Меглицкая¹, А.В. Архипов¹, А.С. Ермолаев¹, М.Г. Дивашук¹,
Г.И. Карлов¹

¹ ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии» (ФГБНУ
ВНИИСБ), Москва 127550

timmokh@yandex.ru

Азот (N) оказывает сильное влияние на рост и продуктивность растений, поэтому в почву вносятся огромные количества азотных удобрений [2]. Однако менее 50% внесенного азотного удобрения усваивается растениями в зависимости от почвенных условий и видов культур [4]. Поступление избыточного азота вызывает загрязнение окружающей среды, поэтому необходимо повышать эффективность использования азота растениями, чтобы получать более высокие урожаи с меньшими затратами азотных удобрений [3].

Нами были исследованы гены, кодирующие белок *NIN-like proteins* (NLP) из подсемейства NIN-подобных белков [1], участвующих в регуляции разнообразных аспектов использования азота растениями пшеницы, которые ранее были связаны с эффективностью использования азота в исследованиях на других злаках, главным образом, на рисе [1, 4].

Целью данной работы является анализ гена *NLP3*, участвующего в азотном метаболизме у злаков. Нами были поставлены следующие задачи: 1) Поиск последовательностей генов азотного обмена в базах данных генома пшеницы; 2) Секвенирование генов азотного метаболизма; 3) Биоинформатический анализ полученных последовательностей; 4) Создание и валидация молекулярных маркеров на данные гены; 6) Поиск ассоциаций этих генов с значимыми для сельского хозяйства признаками.

Мы получили новые нуклеотидные последовательности гена у 10 сортов мягкой пшеницы и 3 сортов тритикале. В полученных последовательностях были выявлен одонуклеотидный полиморфизм в кодирующей последовательности гена, приводящий к замене аминокислотной последовательности белка, на который разработан молекулярный маркер. С помощью данного маркера был проведен скрининг коллекции, состоящей из 3041 рекомбинантных инбредных линий, полученной от скрещивания линий PI518620 (*Rht-B1b*, *Ppd-D1b*) и Cltr17241 (*Rht-B1p*, *Ppd-D1a*). Аллель *TaNLP3-G* был выявлен у 51% растений, аллель *TaNLP3-A* — у 47%, гетерозиготными оказались 2%. По результатам однофакторного дисперсионного анализа аллельное состояние гена *TaNLP3* оказало существенное влияние на скорость наступления колошения. У образцов, несущих аллель *TaNLP3-G*, наблюдалась задержка в колошении на 4 дня. При этом у образцов, несущих аллель *TaNLP3-G*, наблюдалась тенденция к повышению массы 1000 семян и массы зерна в главном колосе.

- [1] Konishi M. Arabidopsis NIN-like transcription factors have a central role in nitrate signalling / M. Konishi, S. Yanagisawa // Nature Communications. — 2013. — Т. 4. — № 1. — С. 1617.
- [2] Dynamic remobilization of leaf nitrogen components in relation to photosynthetic rate during grain filling in maize / X. Mu, Q. Chen, F. Chen [и др.] // Plant Physiology and Biochemistry. — 2018. — Т. 129. — С. 27–34.
- [3] Effect of *Orychophragmus violaceus* incorporation on nitrogen uptake in succeeding maize / L. Yang, W. Cao, K. Thorup-Kristensen [и др.] // Plant, Soil and Environment. — 2016. — Т. 61. — № No. 6. — С. 260–265.
- [4] Rice NIN-LIKE PROTEIN 3 modulates nitrogen use efficiency and grain yield under nitrate-sufficient / Z. Zhang, J. Xia, A. Alfatih [и др.] // Plant, Cell & Environment. — 2022. — Т. 45. — № 5. — С. 1520–1536.

Исследование выполнено при финансовой поддержке государственного задания № FGUM-2022–0001.



Изучение функций транскрипционных факторов NLP у картофеля и анализ их взаимодействия с регуляторами клубнеобразования

А. В. Мыскова¹, М. С. Ганчева¹, Л. А. Лутова¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет
st096579@student.spbu.ru

Белок NIN был впервые описан у *Lotus japonicus*, и позже его гомологи (NIN-like proteins, NLPs) были идентифицированы у растений других таксонов, однако у картофеля они ранее не изучались. Опираясь на данные о регуляции активности NLP с помощью азота в среде, мы предположили, что они могут играть важную роль и в образовании клубней картофеля, поскольку этот процесс так же зависит от содержания азота.

Подробнее всего изучены NLP у *Arabidopsis thaliana*. При этом *AtNLP7* на данный момент вызывает наибольший интерес: показано, что его белковый продукт является сенсором нитрата, а нокауты по этому гену проявляют повышенную устойчивость к засухе. На предыдущих этапах работы мы идентифицировали 6 генов *NLP* в геноме картофеля, среди которых *StNLP3*, *StNLP5* оказались наиболее филогенетически близки к *AtNLP7*. С помощью дрожжевой одногибридной системы было показано взаимодействие транскрипционных факторов *StNLP3* и *StNLP5* с промоторной областью гена *StIT1*, продукт которого является регулятором клубнеобразования. При дальнейшем анализе с помощью двугибридной дрожжевой системы было не обнаружено белок-белковых взаимодействий между NLP и *StIT1*, как и образования гомо- и гетеродимеров *StNLP3* и *StNLP5*. Нами также проведено генетическое редактирование растений картофеля и ведется работа по анализу сверхэкспрессии генов *StNLP3*, *StNLP5*. Таким образом, мы смогли подтвердить возможность участия NLP в регуляции клубнеобразования, а также приблизиться к пониманию роли NLP в обеспечении реакций на абиотические стрессы — засуху и голодание по минеральному азоту.

Данная работа выполняется при поддержке гранта РФФ 22-76-00022.



Результаты селекции яровой тритикале в Красноярском крае

В.И. Никитина¹

¹ Красноярский государственный аграрный университет

vi-nikitina@mail.ru

УДК 633.1 (571.51)

Зерновая культура тритикале, созданная селекционерами, является перспективной для кормопроизводства и расширения сырьевой базы хлебопекарной промышленности. Этому благоприятствует приспособленность тритикале к условиям возделывания, гораздо больший потенциал урожайности на обедненных почвах в сравнении с пшеницей, лучшие показатели качества зерна, чем у ржи. Благодаря этим плюсам она в настоящее время будет способствовать более рациональному использованию имеющихся почвенно-климатических ресурсов зоны выращивания.

Красноярский край — один из крупнейших производителей зерна в Сибири. Для того чтобы стабилизировать производство зерна, необходимо вводить в растениеводство края перспективную высокоурожайную культуру — тритикале. Яровая тритикале фактически не возделывается в Красноярском крае (всего 4 га на 2023 г.), в сортоиспытании находится 3 сорта: Доброе (РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию», ФГБНУ «Верхневолжский ФАНЦ»), Лукошко (ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, ФГБНУ «Верхневолжский ФАНЦ», ООО «Ручейки»), Курагинец (ОПХ «Курагинское» филиал ФГБНУ ФИЦ КНЦ СО РАН).

В 2008–2013 гг. Красноярском ГАУ был изучен исходный материал яровой тритикале в составе 46 образцов из мировой коллекции ГНУ ВНИИР им. Н.И. Вавилова. По элементам структуры урожая, продолжительности вегетационного периода и его фаз, стабильности урожайности, выделены образцы: Хлібодар харківський, Харків АВІАС, ЯТХ 42, Соловей харківський, ПРЛ 11, Мыкола, Коровай харківський, Жайворонок харківський, Kissa 2, Легінь харківський, Скорый. Между ними проведена гибридизация, в результате браковки из полученного материала отобрано 33 гибридных комбинации, которые значительно различались по продуктивности, продолжительности вегетационного периода и элементам структуры урожая. На дальнейших этапах селекционной работы интерес вызвала гибридная комбинация ♀Скорый × ♂Kissa 2, которая в дальнейшем как сорт Курагинец была передана в ФГБУ «Госсорткомиссия» и проходит сортоиспытание с 2023 г. по 10 и 11 региону России.

Селекционная работа по яровой тритикале продолжается. По итогам конкурсного сортоиспытания за 2021–2023 гг. проявили по урожайности в сравнении со стандартным сортом Россика (448 г/м²) пять гибридов: Скорый 2 × ПРЛ 11 (526 г/м²); Скорый × Хлібодар харківський (516 г/м²); Укро × Хлібодар харківський (514 г/м²); ПРЛ 11 × Хлібодар харківський (498 г/м²), ПРЛ 11 × Kissa 2 (506 г/м²).

Масса 1000 зерен у гибридов варьировала в исследуемые годы от 48,1 до 59,3 грамм.

Таким образом, для лесостепной зоны Красноярского края создан селекционный материал с высоким уровнем урожайности, приспособленный к местным условиям с целью создания сортов и рекомендации их производству. Ведутся также исследования по технологии возделывания яровой тритикале, уточняются нормы высева, предшественники и т. д.



Реализация селекционных программ, обеспечивающих формирование высокоурожайных агроценозов риса

В.С. Ковалёв¹, А.М. Оглы¹

¹ ФГБНУ «ФНЦ риса»

ogly-am@outlook.com

Российская селекция риса имеет очень короткую историю — всего 90 лет. Первые отечественные сорта риса были созданы в 50-е годы прошлого века. Вплоть до 90-х годов 20-го века в Краснодарском крае, основном производителе риса, практиковалось моносортное выращивание риса: с 1944 по 1956 год основные площади посевов занимал Краснодарский 3352, с 1956 по 1985 год — Краснодарский 424, с 1986 по 1996 год — Спальчик. С середины 90-х годов была диверсифицирована селекция на сорта техногенно-интенсивные и биологически интенсивные.

В начале 80-х годов были разработаны две морфофизиологические модели сортов: сорта техногенно-интенсивного типа с потенциалом урожайности 110–120 ц/га для плотных посевов и биологически интенсивного (экстенсивного) типа с потенциальной урожайностью 90–95 ц/га для разреженного посева (малозатратных технологий).

Урожайность риса лимитируется биоклиматическим потенциалом региона и функционированием морфо-анатомических структур растений, скоростью биохимических реакций.

Наличие большого разнообразия сортов риса позволило, на основе многочисленных экологических испытаний и производственных проверок, дифференцировать их по реакции на уровень агрофона и сформировать сортовые комплексы для рисосеющих предприятий с разной финансовой и технической обеспеченностью. На основе сортовых комплексов были разработаны сортообороты — научно-обоснованное чередование сортов в специальном севообороте, где одна культура на одном и том же поле высевается более двух лет подряд. В селекционных программах особое внимание обращено на устойчивость к двум важнейшим стрессорам — пирикулярриозу и полеганию.

Проблему устойчивости к пирикулярриозу в сортах последнего поколения решаем путём введения (пирамидирования) эффективных генов расспецифической устойчивости в сорта со средней степенью полевой устойчивости. Для большинства новых сортов наличие одного-двух эффективных генов достаточно, чтобы обеспечить непоражаемость растений при одной профилактической обработке фунгицидом или без неё, так как эпифитотийные погодные условия складываются один раз в 5–7 лет (раньше в 10–12 лет). Проблему полегания решаем путём создания короткостебельных сортов с несколько сниженным Кхоз. (уборочным индексом). Созданы сорта и широко внедряются в производство, которые формируют урожайность 100–105 ц/га без полегания посевов.

Реализовать урожайный потенциал сорта и биоклиматический потенциал региона на сельскохозяйственных культурах сплошного сева возможно только через формирование оптимального агроценоза на основе конкретного сорта. Объединить лучшие качества растения в одном генотипе весьма сложно, так как селекция на физиологический предел по одному признаку приводит к невозможности достижения максимальных параметров по одному или нескольким другим признакам.

Одним из эффективных путей формирования оптимального агроценоза является создание многолинейных сортов или сортосмесей, когда лучшие характеристики двух или нескольких генотипов позволяют сформировать оптимальный агроценоз. Это было доказано экспериментами, проведёнными отделом селекции ВНИИ риса более пятнадцати лет назад.

Исследованиями последних лет в ФНЦ риса были выявлены бинарные смеси, дающие прибавку урожайности 3–10 ц/га. В 2023 году эффективные сортосмеси были высеяны на площади более 400 га. Получена дополнительная продукция на сумму более 6 млн рублей.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда, ООО «СХП им. П. П. Лукьяненко» в рамках научно-инновационного проекта № НИП-20.1/125.



Идентификация и структурно-функциональный анализ гена-кандидата из локуса *Ant27*, контролирующего синтез проантоцианидинов в зерне ячменя (*Hordeum vulgare* L.)

М.О. Орбант¹, О.Ю. Шоева²

¹ Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск ² Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

² Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

bobrova.masha.uep@gmail.com

В оболочке зерна ячменя накапливаются ценные вторичные метаболиты флавоноидной природы — проантоцианидины — олиго- или полимеры, состоящие из мономеров флаван-3-олов. Эти соединения защищают растения от биотических и абиотических стрессов, а также обладают множеством свойств, полезных для человека: антиоксидантными, противомикробными, противоопухолевыми и нейропротекторными [1].

У ячменя известны мутанты по тридцати *Anthocyanin-less* (*Ant*) локусам, у которых нарушен синтез антоцианов и/или проантоцианидинов. Выявленные локусы являются генами, контролирующими синтез этих соединений. Для многих из них неизвестны локализация в геноме и молекулярные функции [2]. Один из таких локусов — *Ant27*. Ранее с помощью массового сегрегационного анализа было установлено его положение на длинном плече хромосомы 5Н. Показано, что искомый ген влияет не только на экспрессию структурных генов биосинтеза флавоноидов, но и на рост и развитие растений, что позволяет предположить, что он является регуляторным геном со множеством функций.

Целью работы является выявление и функциональная характеристика генов-кандидатов из локуса *Ant27*, контролирующего синтез проантоцианидинов в зерне ячменя. Был определен ген-кандидат, кодирующий транскрипционный фактор семейства WRKY, определена нуклеотидная последовательность этого гена, включая его промотор, у двух мутантов по локусу *Ant27* и их родительских сортов. Проводится анализ экспрессии выявленного гена в различных частях растений ячменя.

[1] Rauf A., Imran M., Abu-Izneid T., et al. Proanthocyanidins: A comprehensive review. *Biomed Pharmacother.* 2019;116:108999.

[2] Jende-Strid, B. (1993). Genetic control of flavonoid biosynthesis in barley. *Hereditas*, 119(2), 187–204.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 21-76-10024.



Состав высокомолекулярных субъединиц глютеина и качество клейковины у линий пшеницы с чужеродным генетическим материалом

О.А. Орловская¹, С.И. Вакула², Л.В. Хотылева¹, А.В. Кильчевский¹

¹ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси

² Белорусский государственный технологический университет

flaxol@tut.by

Высокомолекулярные субъединицы глютеинов (ВМСГ) играют ключевую роль в формировании хлебопекарных свойств мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Генетическое разнообразие вариантов запасных белков глютеинов у сородичей мягкой пшеницы несравненно богаче, чем у культивируемых сортов. Цель работы — идентификация состава высокомолекулярных субъединиц глютеина и оценка качества клейковины у линий мягкой пшеницы с интрогрессиями чужеродного генетического материала.

Родительские сорта во всех трех локусах *Glu-1* имели аллели, которые часто встречаются у многих культивируемых сортов *T. aestivum*. У изученных образцов *T. dicoccoides*, *T. spelta* и *T. kiharae* обнаружены нехарактерные для сортов *T. aestivum* ВМСГ. У современных сортов в локусах *Glu-A1* и *Glu-D1* отмечен очень низкий полиморфизм, а ген, кодирующий субъединицу 1Ау, не экспрессируется вовсе. В связи с этим новые субъединицы 1Ах+1Ау, выявленные нами у дикой полбы и синтетической пшеницы *T. kiharae*, а также 1Dх и 1Dу — у *T. kiharae*, могут служить источником для увеличения разнообразия аллелей в локусах *Glu-A1* и *Glu-D1*. 10 из 19 интрогрессивных линий имели ВМСГ родственных видов. В среднем за пятилетний период наблюдений по качеству клейковины (показатель ИДК) сородичи пшеницы значительно превосходили сорта мягкой пшеницы, а интрогрессивные линии существенно не отличались от родительских генотипов. Линии с высокими реологическими свойствами клейковины, как правило, имели в составе глютеинов высокомолекулярные субъединицы родственных видов. Показана перспективность использования сородичей пшеницы для улучшения хлебопекарного потенциала сортов *T. aestivum*.



Роль различных доменов MtWOX9–1 в стимуляции соматического эмбриогенеза у *Medicago truncatula*

Д.Б. Павлова¹, Д.В. Яковлева¹, В.Е. Творогова¹, Л.А. Лутова¹

¹ СПбГУ, Санкт-Петербург
db_pavlova@mail.ru

Высшие растения представляют особый интерес для генетики развития, поскольку могут восстанавливать целый организм из небольшой группы соматических клеток. Соматический эмбриогенез является одним из возможных проявлений этого свойства. Этот процесс представляет собой дедифференцировку соматических клеток растения, приобретение ими тотипотентности, присущей зиготе, и образование эмбрионоподобных структур, которые в дальнейшем могут развиваться во взрослые растения. В соматическом эмбриогенезе участвуют транскрипционные факторы семейства WOX (Wuschel-like homeobox). В нашем исследовании мы решили обратить внимание на MtWOX9–1 — транскрипционный фактор *Medicago truncatula*, способный стимулировать соматический эмбриогенез. Анализ структуры продукта экспрессии этого гена позволил выделить в нём 4 домена. Мы хотим изучить роль этих доменов в соматическом эмбриогенезе для того, чтобы выявить, какие из них необходимы для индукции образования соматических эмбрионов. Мы предполагаем, что полученные результаты позволят увеличить эффективность использования MtWOX9–1 в качестве морфогенетического регулятора. На данном этапе исследования мы сконструировали векторы для сверхэкспрессии вариантов MtWOX9–1, в которых отсутствуют части гена, кодирующие отдельные домены, и провели трансформацию листьев *Medicago truncatula* этими конструкциями.

Исследования проведены при поддержке гранта Министерства образования РФ на создание научного центра мирового класса «Агротехнологии будущего» (соглашение № 075-15-2022-322 от 22.04.2022).



Влияния грибов рода *Fusarium* на урожайность и качество пшеницы и тритикале и возможности использования РНК-интерференции и малых РНК в борьбе с грибными заболеваниями

А.В. Пигалов¹, А.А. Соловьев², Ц.С. Гарибян²

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова (МГУ), Москва

² ФГБУ «ВНИИКР» Московская область Быково

antonpigalov25@gmail.com

Грибы рода *Fusarium* представляют серьезную угрозу для сельскохозяйственных культур, таких как пшеница и тритикале. Они приводят к развитию различных заболеваний растений, таких как фузариоз, гибель ростков, корневых и стеблевых тканей, а также вызывают продуктивные потери и ухудшают качество урожая. Грибы рода *Fusarium* способны также вырабатывать токсины, такие как трихотецены и фумонизины, которые могут быть опасны для здоровья человека и животных при попадании в пищевую цепочку. Патогенные штаммы *Fusarium* могут оставаться жизнеспособными в почве и остатках растений на протяжении длительного времени, что ухудшает условия для выращивания культурных растений на зараженных участках.

Согласно данным исследований, около 30% посевов пшеницы и тритикале оказываются заражены грибами рода *Fusarium*, что приводит к потере до 40% урожая сельскохозяйственных культур. Зараженные участки подвергаются значительным рискам для урожая и здоровья человека, что подчеркивает неотложную необходимость в разработке и применении эффективных методов борьбы с грибными инфекциями.

Для борьбы с грибными инфекциями были открыты и разработаны инновационные методы, такие как РНК-интерференция. РНК-интерференция представляет собой механизм, с помощью которого короткие некодирующие двуцепочечные РНК мешают экспрессии генов, что приводит к подавлению противостойкости грибам рода *Fusarium*. Использование данного метода открывает новые возможности для эффективной борьбы с заболеваниями и улучшения урожайности [1, 2].

Малые РНК, с другой стороны, являются фрагментами РНК, которые могут модулировать иммунный ответ растений, укрепляя их защитные механизмы против грибных инфекций. Эти молекулы способны регулировать экспрессию генов и воздействовать на метаболические пути в растениях, что делает их потенциально эффективными инструментами борьбы с патогенами. Помимо того, малые РНК могут быть использованы для разработки растений с более высокой устойчивостью к грибным инфекциям, что способствует сокращению применения химических пестицидов и снижению негативного воздействия на окружающую среду [1, 2].

Использование метода РНК-интерференции может значительно повысить уровень устойчивости растений к грибным инфекциям и минимизировать потери урожая. Этот инновационный метод предоставляет надежные средства для борьбы с вредителями и болезнями, обеспечивая устойчивость сельскохозяйственных культур и повышая производительность сельского хозяйства. Внедрение современных технологий в сельское хозяйство является важным шагом к обеспечению продовольственной безопасности и устойчивого развития отрасли.

[1] Третьякова П. Я., Соловьев А. А. (2020) Малые РНК в защите растений от болезней. *Экологическая генетика*. 18 (4): 467–482 DOI: 10.17816/ecogen35203

[2] Koch A., Biedenkopf D., Furch A., et al. An RNAiBased Control of *Fusarium graminearum* infections through spraying of long dsRNAs involves a plant passage and is controlled by the fungal silencing machinery. *PLoS Pathog.* 2016;12(10): e1005901. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005901>.



Генетические и селекционные аспекты повышения устойчивости озимых культур к низкотемпературным патогенам

С.Н. Пономарев¹, Г.С. Маннапова¹, В.Ю. Горшков², М.Л. Пономарева¹, О.А. Гоголева²,
С.Ю. Павлова¹, И.О. Иванова¹

¹ ТатНИИСХ ФИЦ КазНЦ РАН

² КИББ ФИЦ КазНЦ РАН

s.ponomarev2020@yandex.ru

Низкотемпературные микромицеты, вызывающие снежную плесень, в последние годы усилили вредоносный характер и частоту проявления, устойчивость к ним контролируется множеством генов и сильно зависит от условий окружающей среды. Основными факторами, обуславливающими серьезные эпифитотии снежной плесени, являются генетически детерминированная восприимчивость и однородность возделываемых сортов, высокая патогенность и сложный патоконкомплекс возбудителей заболевания, нестабильность климатических факторов, а также дефицит высокоэффективных фунгицидов, не способных сдерживать болезнь особенно при длительном залегании снежного покрова. Одни адаптированные к холоду патогены (*Typhula ishikariensis*, *T. incarnata*) развиваются преимущественно при пониженных температурах, другие (*Microdochium nivale*) поражают растения при пониженных температурах, но способны развиваться в довольно широком температурном диапазоне. На основе собранных штаммов-возбудителей снежной плесени нами созданы уникальные инфекционные питомники для тестирования генетических ресурсов растений при повышенной инфекционной нагрузке.

Помимо вопросов практической селекции решаются задачи генетического менеджмента болезней, предполагающего эффективное использование источников устойчивости и фундаментальные проблемы патогенеза. В селекционную программу включен круглогодичный комплексный конвейер фенотипирования образцов озимых культур на устойчивость к доминирующим возбудителям снежной плесени с помощью трех взаимодополняющих тест-систем: 1) полевая оценка на естественном фоне, 2) полевая оценка на усиленном фоне с искусственным внесением специально подобранных изолятов возбудителей и 3) лабораторная оценка на проростках (отсеченные листья).

Первая тест-система позволяет оценить устойчивость на естественном уровне заболевания, который может существенно варьировать в зависимости от погодных условий конкретного года. Вторая тест-система позволяет проверить, как разные генотипы ржи проявляют себя в эпифитотийные годы. Третья тест-система дает возможность оценить устойчивость отсеченных листьев к проникновению грибов-возбудителей и их распространению по поверхности листовой пластинки в строго контролируемых условиях. В пределах разных тест-систем вклад разных генов в наблюдаемую устойчивость будет проявляться в разной степени, что имеет большое значение для правильного подбора родительских форм для создания сортов с повышенной устойчивостью к конкретному возбудителю и их комплексу.



Цитоплазматическая мужская стерильность у яблони и груши

Г.Д. Попов¹

¹ ФГБНУ ФНЦ им. Мичурина И.В., Мичуринск

dmygen@bk.ru

УДК 634.11/13: 575.153

Цитоплазматическая мужская стерильность у плодовых культур явление, которое в настоящее время не используется в селекционной практике. Это осложнено онтогенетической особенностью развития древесных растений, цикл которых может продолжаться десятилетиями. Исследования по инбридингу можно проводить, используя насыщающие скрещивания, учитывая реципрокный эффект. Использование в гибридизации сорта яблони Богатырь и сорта груши Память Яковлева приводит к полному реципрокному эффекту. Такой эффект вызывался аномальным поведением пыльников и абортивностью пыльцы этих сортов. Ввиду этого данные сорта не могут применяться в качестве отцовских форм. Насыщающие скрещивания сорта Богатырь с сеянцами из комбинации скрещивания Богатырь х Гала вызывало нескрещиваемость при опылении сеянцев пыльцой материнского растения и высокое образование семян при опылении сорта Богатырь пыльцой от 10 дочерних растений. Использование пыльцы 10 сеянцев в гибридизации не вызывало нескрещиваемость у сорта яблони Богатырь. В связи с ядерной наследственностью данное явление себя не проявляло. Тем не менее изученные сеянцы вели себя неоднозначно. Количество полученных семян на 100 опыленных цветов колебалось от 150 до 10.

Скрещивания гибридных сеянцев из потомства сортов груши Нежность X Вильямс красный по диаллельной схеме позволило выявить наличие барьера в виде реципрокного эффекта высокого уровня. При этом абортивность пыльцы у исходных форм (сеянцев) отмечена не была. Гибридные особи груши, несущие признаки мужского и женского пола на однодомных растениях, вступали во взаимоотношения как однополые. Реципрокный эффект в данном случае приближался к 100%. переопылении форм с разными генотипами. Признак несовместимости проявился при инбредном скрещивании в качественной форме; на двух сеянцах не образовалось ни одного плода при искусственном самоопылении. Использование пыльцы одного сеянца в качестве опылителя для остальных сибсов по принципу топкросса показало неодинаковое его влияние на завязываемость семян у остальных сеянцев (материнских растений). Пыльца близкородственных растений является хорошим стимулятором для получения апомиктических организмов с гаплоидным набором хромосом, в то время как сама комбинация скрещивания должна относиться к самонесовместимым. В одной комбинации скрещивания получены 4 растения, которые являются гаплоидными. Цветение наступило у них после 30-летнего возраста, но на этих растениях не происходит завязывания плодов.



In silico анализ локуса *SKr*, ассоциированного со скрещиваемостью мягкой пшеницы с рожью

И.В. Поротников¹, О.Ю. Антонова¹, О.П. Митрофанова¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова» (ВИР), Санкт-Петербург

i.v.porotnikov@gmail.com

Низкая скрещиваемость мягкой пшеницы с рожью посевной обусловлена доминантными аллелями генов *Kr1-Kr4* и супрессором *SKr*, который оказывает основное влияние на признак (Laugerotte et al., 2022). В настоящий момент ген *SKr* не клонирован, и нет эффективных диагностических ДНК-маркеров его функциональных аллелей. Известно, что *SKr* локализован в хромосоме 5B и показывает тесное сцепление с маркерами *Xcfb341*, *TGlc2*, *gene12* и *gene13*. В литературе для него наряду с SSR-маркером *Xcfb341* описаны также другие маркеры этого типа — *Xcfb306*, *Xgwm234*, *Xgwm443* (Laugerotte et al., 2022). Проведенная нами апробация перечисленных маркеров показала, что ни один из них не позволяет однозначно идентифицировать совместимые с рожью генотипы (Поротников и др., 2022). Поэтому целями нашего исследования были разработка новых SSR-маркеров, расположенных в районе локализации гена *SKr*, и поиск генов-кандидатов на роль *SKr*.

Использованный нами участок для поиска SSR-локусов в сборке генома Chinese Spring (IWGSC RefSeq v2.1) расположен между рекомендуемыми для *SKr* маркерами *gene12* (косерегирует с *SKr*) и *gene13* (0,4 cM) (Laugerotte et al., 2022). На нем всего обнаружено 19 SSR-локусов с мотивами 3–6 п. о., в среднем один на каждые 290 kb. Из них для шести мы разработали специфические праймеры и провели апробацию их и еще трех SSR-локусов из литературных источников *Xcfb382*, *Xicgc178* и *Xicg15c020* (Нестеров и др., 2018; Laugerotte et al., 2022) на выборке из 16 генотипов пшеницы. В результате отображены полиморфные локусы *Xskr_1*, *Xskr_3*, *Xcfb382* и *Xicgc178*. Планируется с их помощью генотипировать 76 образцов мягкой пшеницы, которые контрастны по скрещиваемости с рожью.

Поиск генов-кандидатов на роль супрессора *SKr* проводили с использованием геномной сборки сорта *Lancer* (PGSBv2.1) на участке размером 4,9 Mb между маркерами *Xcfb306* (0,6 cM дистально от *SKr*) и *gene13* (0,4 cM проксимально). Всего на данном участке находится 37 аннотированных генов, из них функции десяти могут быть отнесены к действию *SKr* (ответные реакции на стрессоры, транспортные и рецепторные функции). Результаты выравнивая аминокислотных последовательностей, кодируемых этими десятью генами, показали, что по семи из них наблюдаются различия между сортами с высокой (*Chinese Spring*, *Norin61*) и низкой (*Lancer*, *Julius*) скрещиваемостью. Для амплификации каждого из генов-кандидатов нами разработаны фланкирующие праймеры. Они будут использованы для анализа последовательностей этих генов у форм пшеницы с высокой/низкой скрещиваемостью с рожью.

1. Нестеров М. А., Афонников Д. А., Сергеева Е. М., Мирошниченко Л. А., Брагина М. К., Брагин А. О., Васильев Г. В., Салина Е. А. Идентификация микросателлитных локусов по данным секвенирования ВАС-клонов и их физическое картирование на хромосому 5B мягкой пшеницы // Вавиловский журнал генетики и селекции. — 2015. — Т. 19(6). — С. 707–714. DOI.org/10.18699/VJ15.086.
2. Поротников И. В., Пюккенен В. П., Антонова О. Ю., Митрофанова О. П. Эффективность молекулярных маркеров гена-супрессора *SKr*, определяющего скрещиваемость мягкой пшеницы с рожью посевной // Экологическая генетика. — 2022. — Т. 20(3). — С. 203–214. DOI.org/10.17816/ecogen110867.
3. Laugerotte J., Baumann U., Sourdille P. Genetic control of compatibility in crosses between wheat and its wild or cultivated relatives // Plant Biotechnol J. — 2022. — V. 20(5). — P. 812–832. DOI.org/10.1111/pbi.13784.



Генетическая коллекция ВИР — источник биологического разнообразия льна

Е.А. Пороховинова¹, А.В. Павлов¹, А.А. Слободкина¹, С.Н. Кутузова¹, Н.Б. Брач¹

¹ Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н. И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург

e.porohovnova@mail.ru

Генетическая коллекция льна ВИР (ГК) содержит 576 линий. Она создается с 1970-х годов по признакам устойчивости к ржавчине (90 линий), высоте растений, продолжительности фаз вегетационного периода (96) и морфологическим признакам (МП, 390). Линии выделяли из коллекции генетических ресурсов льна ВИР или гибридных популяций с помощью отбора и индивидуальной изоляции в течение 6 константных поколений. Исходными формами большинства линий выступали местные образцы льна скороспелые и/или устойчивые к ржавчине. Эти 140 линий, в отличие от исходных форм, генетически однородны и могут быть использованы в селекции. 34 линии получены из институтов России, Беларуси, Франции и Украины. Восстановлены линии коллекций Т. Таммес, Г. Флора, Ф. Плонка, а также линии из форм, полученных генетиками России, Украины, Литвы, Чехии и др. стран. В ГК сохраняются 17 линий, полученных в 1980-х годах А.В. Поляковым (Россия) с полиэмбрионией. В ГК есть линия из сорта Bethune (Канада) с референсным геном, 12 линий из *Linum angustifolium*, *L. bienne* и *L. crepitans*, 11 линий — мутантов по форме стебля (гены *curly stem1* и *dwarf1*), 18 линий с измененной хлорофильной окраской, в том числе с материнским типом наследования, обусловленным геном *ugp3*. Ген *ugp3* впервые выявлен в 2023 г. у линии ВИР гк480 (л1 из иб12950, Agt907/07, Чехия, AGRITEC). В ГК есть линии с тремя типами ЦМС и ее восстановителями. У 94 линий изучено наследование 43 генов МП, из которых впервые описано 9. Создано 106 линий гомозиготных по нескольким генам МП. 158 линий имеют светлую окраску семян для создания сортов пищевого назначения. В ГК есть 19 линий, обладающих пониженным содержанием линоленовой кислоты (LIN). У 17 из них известны аллели генов биосинтеза LIN (*lufad3a*, *lufad3b*), 2 линии имеют не описанные в литературе мутации. Для селекции идеальны доноры — линии, несущие гены хозяйственно ценных признаков, практически не отличающиеся от районированных сортов по основным характеристикам. В ГК входят 32 донора, 24 — созданные в ВИР: 19 — с эффективными аллелями генов устойчивости к ржавчине и 5 — с доминантными генами скороспелости; 8 — во ВНИИЛ, по высоковолокнистости, устойчивости к фузариозу и ржавчине. Таким образом, в России находится крупнейшая в мире ГК льна.



Генотипирование коллекции озимой мягкой пшеницы с использованием KASP-маркеров в условиях Западной Сибири

И.В. Поточкая¹, С.С. Шепелев¹, Е.К. Туруспеков², А.И. Моргунов³, А.С. Чурсин¹, А.М. Ковальчук¹,
В.П. Шаманин¹

¹ Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, г. Омск

² Институт биологии и биотехнологии растений, г. Алматы

³ Казахский агротехнический исследовательский университет имени С. Сейфуллина, г. Астана

iv.pototskaya@omgau.org

В Западной Сибири озимая пшеница рассматривается в качестве одного из источников увеличения производства зерна благодаря повышенной урожайности и лучшему использованию биоклиматических ресурсов региона. Генотипирование сортов и линий озимой пшеницы с помощью SNP-локусов помогает изучить генетическую структуру популяции, выявить уровень ее полиморфизма и идентифицировать эффективные маркеры, связанные с хозяйственно-ценными признаками (Kaur et al., 2020; El Baouchi et al., 2023).

Международная коллекция образцов озимой пшеницы генотипирована с использованием 55 KASP-маркеров, выявлено 36 полиморфных, 5 мономорфных и 14 маркеров с минорной частотой аллелей (MAF < 0.05). Среднее число аллелей составило 2, число эффективных аллелей — 1,42. Индекс Шеннона находился в пределах 0,058–0,693, со средним значением 0,40; ожидаемая гетерозиготность — 0,25. Наибольшее генетическое разнообразие изученных аллелей по индексу Шеннона (0,688–0,693) отмечено для локусов, локализованных в хромосомах генома В — *ipbb_ta_124*, *ipbb_ta_165*, *ipbb_ta_275*. Изучение популяционной структуры и генетического сходства образцов коллекции из разных географических групп и селекционных учреждений выявило их деление на шесть субпопуляций, независимо от происхождения образцов. В основном, образцы российской селекции из Ростовской области были сгруппированы в третьем кластере, а образцы из Краснодарского края — в шестом кластере вместе с образцами из Мексики, США, Болгарии и Турции.

Наибольшую частоту встречаемости (0,833–0,990) в изученной популяции озимой пшеницы имеют благоприятные аллели локусов, ассоциированные с признаками продолжительности колошения (*ipbb_ta_229*), продолжительности от колошения до созревания (*ipbb_ta_197*), длиной главного колоса (*ipbb_ta_196*; *ipbb_ta_114*), количеством продуктивных колосьев (*ipbb_ta_107*), массой 1000 зерен (*ipbb_ta_241*), урожайностью (*ipbb_ta_188*), содержанием белка в зерне (*ipbb_ta_220*; *ipbb_ta_261*), содержанием клейковины в зерне (*ipbb_ta_219*; *ipbb_ta_220*), стекловидности зерна (*ipbb_ta_274*), устойчивости к желтой ржавчине (*ipbb_ta_141*). Коллекционные образцы, характеризующиеся наиболее высокой урожайностью за два года исследований (362–379 г/м²), имели одинаковое или большее число благоприятных аллелей (29–36) по изученным SNP-локусам в сравнении со стандартом Омская 4. Данные сорта рекомендуются при создании нового исходного материала для расширения генетического разнообразия сортов озимой пшеницы: Донэко, Донская Лира, Золушка, Донна, Жива (Россия), KS13DH0030–29, SY Wolf (США).

Исследования проведены при финансовой поддержке Российского научного фонда (соглашение № 23-16-20006 от 20.04.2023 г.).



Опыты по ускоренному прохождению яровизации у озимых злаков

С. Радзениец¹, Д.О. Бизякина¹, М. Алкубеси¹, А.Ю. Крупина¹, Н.Ю. Свистунова¹,
В.Ю. Канунникова¹, А.О. Блинков¹, А.А. Кочешкова¹, М.Г. Дивашук¹

¹ ФГБНУ ВНИИСБ, Москва

radzen.lana@gmail.com

В настоящее время Speed Breeding является инновационным методом, который активно используется в прикладной и фундаментальной работе для получения полной вегетации яровых злаков за 2 месяца. Однако ограничивающим фактором в быстром размножении озимых культур является длительный процесс яровизации, требующий от 40 до 60 суток. Недавнее исследование показало, что достаточно 28 дней яровизации для раннего и дружного цветения озимых злаков при соблюдении таких факторов, как поддержание температуры 10 °С, фотопериода 22 ч день/2 ч ночь и помещение семян на поверхности почвы [1]. Мы решили протестировать ряд параметров, которые могут влиять на ускорение яровизации местных озимых злаков.

В качестве экспериментальных озимых генотипов мы использовали твёрдую пшеницу (3596h56, Цель и Кордон), мягкую пшеницу (Московская 39, Каравай, Азотофиксирующая) и тритикале (Илия, Венец, Хлебороб). Отбирали генотипы с разной требовательностью к яровизации и чувствительности к фотопериоду. Среди протестированных объемов лучший результат показали кассеты с объёмом ячеек 120 мл. В таких кассетах кущение было ограничено и наблюдался быстрый выход в трубку. Также мы обнаружили, что изолированные зародыши являются отличным объектом для яровизации. Были оценены такие факторы, как температура (5 °С и 10 °С), фотопериод (короткий 10 ч день/14 ч ночь и длинный 22 ч день/2 ч ночь) и интенсивность света (низкая 50 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ и высокая 450 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$). В результате лучшими факторами для большинства генотипов стали короткий фотопериод, температура 5 °С и низкая интенсивность света. Однако для сортов тритикале Венец и Хлебороб, которые являются двуручками, напротив, оптимальными оказались условия, представленные в иностранном протоколе [1].

[1] Cha J. K. et al. Speed vernalization to accelerate generation advance in winter cereal crops. 2022. 15(8): 1300–1309.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Курчатовского геномного центра — ВНИИСБ, Соглашение 075-15-2019-1667.



Поиск генов TALE в коллекции изолятов *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

О.Л. Ражина¹, К.А. Черняев¹, Н.Е. Злобин¹, Ф.С.-У. Джалилов², А.Н. Игнатов³, В.В. Таранов¹

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии, Москва

² Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва

³ Российский университет дружбы народов, Москва

oksana-razhina@yandex.ru

Xanthomonas campestris pv. *campestris* (Хсс) способен вызывать сосудистый бактериоз на различных культурных растениях семейства *Brassicaceae*, чем наносит значительный урон сельскому хозяйству. Ранее было обнаружено, что некоторые штаммы Хсс имеют гены TAL-эффекторов. TAL-эффекторы — это белки, которые, попадая в клетки растений, способны связываться с промоторными областями определённых генов, что приводит к подавлению защитного ответа растений и способствует развитию инфекции. Данные эффекторы необходимы для подавления защитной реакции растений, активно использующихся в сельском хозяйстве, таких как белокочанная и цветная капуста. Установление аминокислотной последовательности TAL-эффекторов позволяет определить гены-мишени растений, экспрессия которых регулируется TAL-эффекторами. Данная особенность TAL-эффекторов позволяет установить гены-кандидаты растений для их дальнейшего редактирования с целью повышения устойчивости к сосудистому бактериозу.

Поскольку гены TAL-эффекторов характеризуются значительной длиной (обычно около 2500–3500 п. н.), высоким содержанием GC-пар и наличием в средней части генов ряда последовательных повторов длиной 102–105 нуклеотидов, амплификация полноразмерных последовательностей генов TAL-эффекторов затруднена и нецелесообразна для определения присутствия этих генов в образцах *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Для определения наличия генов, кодирующих TAL-эффекторы, в генотипах рабочей коллекции *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, были подобраны 4 пары праймеров на консервативные концевые участки, располагающиеся за пределами повторяющихся фрагментов данных генов.

В рамках данной работы был исследован набор изолятов Хсс различных рас, в которых ранее не было показано наличие генов TALE. Коллекции изолятов были предоставлены кафедрой защиты растений РГАУ-МСХА и агробиотехнологическим департаментом РУДН, собранных из различных регионов России и мира. Было проанализировано более 100 изолятов Хсс.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования, проект № 13.2251.21.0205.



Агробактериальная трансформация растений *Camelina sativa* (L.)

П.Л. Ражина¹, А.А. Веселкин¹, П.И. Козенкова², М.В. Лебедева¹, В.В. Таранов¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва

² Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», Москва

razhinapolina@yandex.ru

Рыжик посевной (*Camelina sativa* (L.) Crantz) — масличная культура семейства Крестоцветные. Рыжиковое масло используют в пищевой промышленности, при производстве биотоплива, также из него делают краски и лаки. Процентное содержание жирных кислот в рыжиковом масле схоже с составом льняного масла, оно дольше сохраняет свои свойства, и в его составе более высокое содержание витамина Е. Особенностью рыжикового масла является высокое содержание Омега-6 и Омега-9 жирных кислот, также в его составе высокое содержание линоленовой и гондоиновой кислот, бета-каротина и стеролов.

В настоящий момент активно разрабатываются новые сорта рыжика по всему миру, в том числе с использованием системы редактирования генома CRISPR-Cas9, для улучшения состава рыжикового масла, устойчивости к гербицидам и содержания масла в семенах.

На первом этапе надо отработать трансформацию перспективных сортов рыжика посевного. Были выбраны сорта: Омич, Исыкуль, Кристалл, предоставленные нам ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК. Нами было использовано два принципиально отличающихся подхода трансформации рыжика посевного: «Floral-dip» и агробактериальная трансформация *in vitro*.



Традиционные и современные подходы в создании исходного материала для актуальных направлений селекции картофеля

Е. В. Рогозина¹, Н. В. Алпатьева¹, Е. А. Иванова¹, Н. А. Чалая¹, М. А. Кузнецова², А. Е. Соловьева¹

¹ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии»

rogozinaelena@gmail.com

Успех в создании конкурентоспособных сортов картофеля зависит от своевременного пополнения, поддержания и использования генетических коллекций, предоставляющих исходный материал для актуальных направлений селекции. В коллекции картофеля ВИР, в результате планомерной работы по интродукции, скринингу генофонда и межвидовой гибридизации подготовлено более 100 гибридов картофеля, перспективных в качестве родительских линий для селекции отечественных сортов различного целевого назначения. Традиционным направлением работ по пред-селекции (созданию исходного материала) является получение на основе образцов из коллекции ВИР гибридов, устойчивых к болезням и вредителям: фитофторозу (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, золотистой картофельной нематодой — ЗКН (*Globodera rostochiensis* Wollenweber), раку (*Synchytrium endobioticum* (Schilb.) Perc.), вирусам картофеля. Скрининг с использованием ДНК маркеров *R* генов, контролирующей устойчивость к фитофторозу, ЗКН, ХВК и УВК, выявил гибриды картофеля с групповой устойчивостью к болезням и разными комбинациями *R* генов (Rogozina et al. 2021, Beketova et al. 2021). В потомстве гибридов 171–3, 13/11–09, 16/27–09 с высокой (7–8 баллов) устойчивостью к фитофторозу, несущих от одного до трех *Rpi* генов, оценен характер наследования целевого признака и ДНК маркеров генов *Rpi-R1*, *Rpi-R3b*, *Rpi-blb1 = Rpi-sto1*. В потомстве гибридов 99–10–1 и 135–5–2005, устойчивых к УВК, оценен характер наследования целевого признака и ДНК маркеров генов *Ry_{adg}* и *Ry_{sto}* (Бирюкова и др. 2022).

Для селекционных программ по созданию сортов, пригодных для переработки на картофелепродукты, или диетического питания в коллекции ВИР, выделены образцы с высоким (более 25%) содержанием сухого вещества — пять гибридов, повышенным (более 30 мг/100 г) содержанием витамина С — пять гибридов, повышенным (более 500 мг/100 г) содержанием антоцианов — четыре гибрида, низким (менее 10%) содержанием крахмала — два гибрида. Выделены образцы с низким (менее 0,25%) содержанием редуцирующих сахаров — 26 сортов и гибридов, пригодные для переработки после пяти месяцев хранения — восемь гибридов, с нетемнеющей мякотью — 4 гибрида.

Особый интерес для практической селекции представляют гибриды, сочетающие устойчивость к болезням с улучшенными биохимическими показателями клубней. Например, гибрид 16/27–09 с высоким содержанием сухого вещества, крахмала (19–21%), низким содержанием редуцирующих сахаров (0,15%), устойчивый к фитофторозу листьев и клубней (обеспечивают гены *Rpi-R1*, *Rpi-Blb1*); гибрид 4225 BAZ с высоким содержанием сухого вещества, низким содержанием редуцирующих сахаров (0,09%), устойчивый к ЗКН, пригодный для изготовления чипсов; гибрид 8–1–2004(137), устойчивый к ЗКН и У-вирусу картофеля, с нетемнеющей мякотью.

1. Rogozina, E. V.; Beketova, M. P.; Muratova, O. A. et al. Stacking Resistance Genes in Multiparental Interspecific Potato Hybrids to Anticipate Late Blight Outbreaks. *Agronomy* 2021, 11, 115. <https://doi.org/10.3390/agronomy11010115>.
2. Beketova, M. P.; Chalaya, N. A.; Zoteyeva, N. M. et al. Combination Breeding and Marker-Assisted Selection to Develop Late Blight Resistant Potato Cultivars. *Agronomy* 2021, 11, 2192. <https://doi.org/10.3390/agronomy11112192>.
3. Бирюкова В. А., Жарова В. А., Чалая Н. А. и др. Молекулярные маркеры как инструмент в селекции на устойчивость к У-вирусу картофеля. *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2022;23(6):777–787. <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2022.23.6.777-787>.



Изучение коллекции картофеля ВИР на устойчивость к бактериальным заболеваниям

К.И. Родионов¹, М.Н. Ситников¹

¹ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург
kostarod999@mail.ru

Картофель традиционно относится к числу важнейших сельскохозяйственных культур разностороннего использования. Сегодня картофель занимает четвертое место среди наиболее важных сельскохозяйственных культур в мире после пшеницы, риса и кукурузы, и серьезной угрозой для выращивания картофеля остается широкая распространённость бактериальных инфекций.

Одни из наиболее вредоносных заболеваний картофеля — так называемая черная ножка и кольцевая гниль, вызываемая бактериями *Pectobacterium atrosepticum* van Hall, *Clavibacter sepedonicum* Spieckermann and Kottoff, соответственно. Ежегодные потери урожая от этих болезней составляет 10–15%, а в эпифитотийные годы могут превышать 50%. Основными факторами, затрудняющими борьбу с этими заболеваниями, являются отсутствие устойчивых сортов и эффективных методов обеззараживания, а также латентный характер заболевания. В условиях постоянно возрастающей вредоносности большинства патогенов, появления всё новых рас и штаммов, формирования патогенных организмов и вредителей, резистентных к химическим средствам защиты растений, селекция устойчивых к болезням и вредителям сортов приобретает особую актуальность. Поэтому важным резервом увеличения производства картофеля может служить знание о генетических аспектах устойчивости картофеля к данным заболеваниям и выведение новых, более продуктивных сортов картофеля, устойчивых к наиболее распространенным и вредоносным инфекциям, что поможет избежать потерь урожая.

Цель исследования: мониторинг коллекции картофеля ВИР им. Н.И. Вавилова на поражение возбудителями черной ножки и кольцевой гнили клубней.

Клубневая коллекция картофеля ВИР поддерживается на полях Пушкинских и Павловских лабораторий ВИР, г. Пушкин, Санкт-Петербург. В процессе хранения картофеля (диких и примитивных видов картофеля и селекционных сортов *Solanum tuberosum* L. и межвидовых гибридов, а также *Solanum andigenum* Juz. et Buk) была проведена визуальная оценка наличия заболеваний «Черная ножка» и «Кольцевая гниль». Было оценено более 3000 образцов коллекции. Выраженные признаки указанных заболеваний, наблюдались на 35 образцах. Для уточнения наличия возбудителей *Pectobacterium atrosepticum* van Hall «черная ножка» и *Clavibacter sepedonicum* Spieckermann and Kottoff (кольцевая гниль). Был проведен анализ с помощью ПЦР в реальном времени. Использовались коммерческие наборы фирмы «Синтол», предназначенные для обнаружения указанных патогенов в растительном материале. Для анализа были отобраны 22 образца, клиническая картина повреждения которых была недостаточно выражена. ДНК выделялась из пораженных клубней с помощью коммерческого набора фирмы «Синтол». ПЦР-РВ проводилась на амплификаторе Bio-Rad CFX 96. В результате проведенного анализа было выявлено наличие возбудителя *Clavibacter sepedonicum* у образцов 952–8–2017, 912–1–2018, 117–5–2004, Вымпел, Hindenburg, Гренадер, к-3599 и *Pectobacterium atrosepticum* у образцов 952–8–2017, 912–1–2018, 117–5–2004, Elan, Вымпел, Hindenburg, Foxton, Гренадер, к-3599. Большинство образцов коллекции оказались устойчивые к данным бактериям в условиях Северо-Западного региона РФ.



Фенотипирование растений картофеля с помощью морфо-физиологических инструментов

О.А. Розенцвет¹, Е.С. Богданова¹, Е.Е. Ломакина¹, В.Н. Нестеров¹

¹ Самарский федеральный исследовательский центр РАН,
Институт экологии Волжского бассейна РАН, Тольятти, Россия

olgarozen55@mail.ru

Картофель (*Solanum tuberosum* L.) является четвертой, наиболее потребляемой культурой в мире, которая выращивается в 160 странах и дает 322 млн тонн урожая в год. В настоящее время выращивание картофеля, как и многих других сельскохозяйственных культур, требует новых подходов и методов возделывания и селекции. Фенотипическая оценка селекционных линий, клонов или популяций является одним из таких подходов. Урожайность сельскохозяйственных культур является важным показателем в программах селекции. В настоящей работе исследованы морфофизиологические параметры, сопряженные с урожайностью. В качестве инструментов фенотипирования использовали линейные размеры листьев, площадь листовой массы, количество стеблей, количество клубней на растение, среднюю массу клубней, признаки вирусной инфекции, а также показатели сухой массы, содержания пигментов и пр. В результате полевых экспериментов выявлена существенная вариативность показателя урожайности 29 новых сортов картофеля внутри сортовых групп, дифференцированных по срокам созревания. В каждой группе обнаружены сорта, отличающиеся по урожайности от стандартов внутри сортовой группы и между группами. В группе среднеранней спелости обнаружено наибольшее число высокоурожайных сортов, у которых клубни в среднем имели большую массу. Показано, что в целом высокоурожайные сорта, вместе с особенностями архитектуры куста, отличались более поздними сроками появления всходов. Проведение дисперсионного и корреляционного анализов позволило выявить потенциальную взаимосвязь генотипа и фенотипа. Урожайность положительно коррелирует с площадью куста ($R = 0,75$, $p = 0,002$), отношением площади листовой массы к высоте куста на стадии полных всходов ($R = 0,55$, $p = 0,004$), линейными размерами листьев в период цветения ($R = 0,44$, $p = 0,002$), количеством стеблей ($R = 0,36$, $p = 0,05$) и устойчивостью к вирусам X и S — ($R = 0,42$, $p = 0,03$ и $R = 0,43$, $p = 0,02$, соответственно). Обратная взаимосвязь обнаружена между урожайностью и динамикой роста надземной массы ($R = -0,29$, $p = 0,05$).

Таким образом, на стадии предварительной селекции картофеля традиционные визуальные методы определения фенотипов являются информативными, поскольку позволяют отобрать сорта для практического использования или в качестве источника генетического материала.

Работа поддержана грантом РФФИ № 23-26-10020.



Разработка методов получения корневых меристем на ветвях и приготовления препаратов хромосом цитрусов

Д.В. Романов¹, В.А. Коробкова¹, О.В. Разумова¹, О.С. Александров¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Лаборатория прикладной геномики и частной селекции сельскохозяйственных растений, Москва

akabos1987@gmail.com

Цитрусовые культуры имеют высокую пищевую ценность. Благодаря наличию в цитрусах комплекса витаминов и других биологически активных веществ, их рекомендуют для профилактики и лечения гиповитаминозов, заболеваний печени, сердца и сосудов, обмена веществ [1]. Помимо использования в пищу, цитрусовые культуры представляют собой важное сырьё для парфюмерной промышленности. В цветках и листьях присутствует большое количество ценных эфирных масел, древесина стволов имеет высокую плотность, а растения весьма декоративны. Кроме того, цитрусовые масла также обладают инсектицидными свойствами [2]. Цитрусы широко культивируются во многих странах с тропическим и субтропическим климатом [3]. С конца XX века потребление цитрусовых на душу населения в мире быстро растёт. В международной торговле фруктами цитрусовые занимают первое место по стоимости [4].

Цитогенетические исследования помогают в понимании эволюции и уточнении систематики цитрусов, а также в проведении селекционной работы по созданию новых хозяйственно-ценных гибридов цитрусов и по переносу генов хозяйственно-ценных признаков: устойчивости к болезням и вредителям, химического состава, питательной ценности и др.

Первым и наиболее важным этапом цитогенетических исследований является приготовление цитологических препаратов. Нами был создан высокоэффективный метод приготовления препаратов хромосом цитрусов и проведен сравнительный анализ разработанного нами метода и классических методов приготовления препаратов хромосом: раздавливания [5, 6], распластывания [7], раскапывания [8]. Были приготовлены цитологические препараты метафазных хромосом изучаемых растений рода Цитрус. Кроме того, нами был разработан метод получения корневых меристем хорошего качества на ветках растений рода цитрус.

Обсуждаются этапы разработанных методов и их влияние на качество корневых меристем и цитологических препаратов.

- [1] Matheyambath, A. C., Padmanabhan, P., & Paliyath, G. (2016). Citrus fruits. December 2016. DOI:10.1016/B978-0-12-384947-2.00165-3.
- [2] Liu, Y., Heying, E., & Tanumihardjo, S. A. (2012). History, global distribution, and nutritional importance of citrus fruits. *Comprehensive reviews in Food Science and Food safety*, 11(6), 530–545.
- [3] Zhong, G., & Nicolosi, E. (2020). Citrus origin, diffusion, and economic importance. *The citrus genome*, 5–21.
- [4] Palou, L., & Smilanick, J. L. (Eds.). (2019). *Postharvest pathology of fresh horticultural produce*. CRC Press.
- [5] Houben, A., Demidov, D., Gernand, D., Meister, A., Leach, C. R., & Schubert, I. (2003). Methylation of histone H3 in euchromatin of plant chromosomes depends on basic nuclear DNA content. *The Plant Journal*, 33(6), 967–973.
- [6] Dang, J., Zhao, Q., Yang, X., Chen, Z., Xiang, S., & Liang, G. (2015). A modified method for preparing meiotic chromosomes based on digesting pollen mother cells in suspension. *Molecular cytogenetics*, 8, 1–8.
- [7] Schwarbacher, T. (2016). Preparation and fluorescent analysis of plant metaphase chromosomes. *Plant Cell Division: Methods and Protocols*, 87–103.
- [8] Aliyeva-Schnorr, L., Ma, L., & Houben, A. (2015). A fast air-dry dropping chromosome preparation method suitable for FISH in plants. *JoVE*, (106), e53470.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 23-16-00234).



Разработка технологии молекулярно-генетической идентификации и паспортизации гибридов сахарной свёклы с использованием микросателлитных маркеров

Т.С. Руденко¹, А.А. Налбандян¹, Т.П. Федулова¹, И.В. Черепухина¹, Т.Н. Багмутова¹,
Е.А. Слепокурова¹

¹ ФГБНУ «Всероссийский НИИ сахарной свёклы и сахара им. А.Л. Мазлумова»
biotechnologiya@mail.ru

Сахарная свёкла обладает двулетним циклом развития, перекрестным характером опыления, системой самонесовместимости, явлением ЦМС, полиплоидии, апомиктическим способом размножения.

Цель работы — разработать методику молекулярно-генетической идентификации и паспортизации гибридов сахарной свёклы с использованием микросателлитных маркеров.

Была проведена оценка 8-ми гибридов сахарной свёклы отечественной селекции на ООС по 27 биоморфологическим признакам, принятым ФГБУ «Госсорткомиссия». Для более точной идентификации генотипов сахарной свёклы предлагается использовать метод микросателлитного анализа [1–3]. Все подобранные праймеры к микросателлитным локусам генома характеризовались высоким показателем полиморфизма. Максимальное число обнаруженных аллелей на SSR локус составило 13. Наибольший уровень полиморфного обеспечения (PIC) установлен для локуса Unigene 17923 (PIC=0,96).

Для создания методики, позволяющей получить стабильные ДНК-паттерны, необходимо изучение и выявление высокополиморфных SSR-локусов на большой выборке селекционных генотипов сахарной свёклы. В исследовании представлены результаты подбора 12 микросателлитных локусов, пригодных для генетической паспортизации гибридов сахарной свёклы. По результатам фрагментного анализа был установлен размер полученных ПЦР-ампликонов у растений изучаемых гибридов. На основе полученных молекулярных данных составлены генетические формулы.

1. Налбандян А. А., Федулова Т. П., Хуссейн А. С., Черепухина И. В. Дифференциация сортообразцов сахарной свеклы по SSR-маркерам для создания перспективных гибридов // Российская сельскохозяйственная наука. — 2020. — № 4. С. 18–21. doi:10.31857/S2500262720040043.
2. Шалаева Т. В., Анискина Ю. В., Колобова О. С., Велишаева Н. С., Логвинов А. В., Мищенко В. Н., Шилов И. А. Исследование микросателлитных локусов генома сахарной свеклы (*Beta vulgaris L. ssp. vulgaris*) для создания технологии генетического анализа линий и гибридов // Сельскохозяйственная биология. — 2023. — том 58(3). — С. 483–493. doi: 10.15389/agrobiology.2023.3.483rus.
3. Fugate K., Fajardo D., Schlautman B., Ferrareze J. P., Bolton M. D., Campbell L., Wiesman E., Zalapa J. Generation and Characterization of a Sugar Beet Transcriptome and Transcript-Based SSR Markers // The Plant Genome. — 2014. — V.7 (2). — P. 1–13. doi.org/10.3835/plantgenome2013.11.0038.



Генетическая коллекция *Ribes nigrum* L. ФНЦ Садоводства и использование её в селекции

Ф. Ф. Сазонов¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный селекционно-технологический центр садоводства и питомниководства»

sazon-f@yandex.ru

В настоящее время одним из основных центров селекционной работы по смородине чёрной (*Ribes* L.) является ФГБНУ ФНЦ Садоводства. Здесь собрана генетическая коллекция культуры, насчитывающая 102 образца, где отечественные сорта составляют 73,5%, из них 15,7% селекции ФНЦ Садоводства. Сорта зарубежной селекции представлены генотипами, созданными в Украине (11,8%), Республике Беларусь (5,9%), Великобритании (4,9%), Польше (2,9%), Швеции (1,0%).

Многолетнее комплексное изучение генофонда смородины чёрной ФНЦ Садоводства позволило выделить и подобрать для дальнейшей селекции наиболее перспективные генетические источники основных хозяйственно важных признаков и свойств. В последние годы доведено до сочетания в одном генотипе 5–7 олигогенов конкретных лимитирующих признаков. При формировании гибридных популяций используются такие олигогенные доноры: устойчивости к мучнистой росе — гены M1, M2, Sph2 (производные *R. scandinavicum*), ген M3 (*R. petiolare*), ген Sph3 (*R. glutinosum*, *R. carrierei*, *R. sanguineum*); к антракнозу — гены Pr1, Pr2 (производные *R. dikuscha*) и гены R1–3 (*R. n. sibiricum*); к столбчатой ржавчине — ген Cr (*R. ussuriense*); почковому клещу — ген P (*R. ussuriense*, *R. n. sibiricum*); а также идентифицированные, но не индексированные олигогены пряморослости куста (Вертикаль, *R. glutinosum*), длиннокистности (*R. petiolare*, Черешнева) и многокистности плодовых почек (*R. dikuscha*).

Из гибридного потомства производных *R. dikuscha*, *R. ussuriense*, *R. n. europaeum*, *R. n. sibiricum* (Рита × Titania) нами выделен сорт Миф, который отличается высокой продуктивностью (2,7–3,0 кг/куст), урожайностью (11,3–12,5 т/га), крупноплодностью (средняя масса ягод 2,1 г) и по ряду показателей (прочность ягод, дружность созревания, усилие отрыва от плодоножки, габитус куста) отвечает требованиям пригодности к машинной уборке урожая. В 2016 г. сорт Миф включен в Госреестр селекционных достижений, допущенных к использованию.

Сорта Кудесник (Нара × Венера) и Подарок Ветеранам (Добрыня × Венера), созданные с участием производных *R. scandinavicum*, *R. dikuscha*, *R. sibiricum*, отличаются высокой самоплодностью (> 60%), устойчивостью к мучнистой росе, почковому клещу, урожайностью до 12,5 т/га, пригодностью к механизированной уборке урожая. В 2022 г. сорта Кудесник и Подарок Ветеранам включены в Госреестр селекционных достижений.



Оценка цитогенетической стабильности колхицин индуцированных форм синюхи голубой (*Polemonium caeruleum* L.)

Т. Е. Саматадзе¹, Ф. М. Хазиева², О. Ю. Юркевич¹, И. В. Басалаева², А. В. Амосова¹, О. В. Муравенко¹

¹ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН

² Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений

tsamatadze@gmail.com

К числу растений, обладающих широким спектром биологического действия и представляющих несомненный интерес относится синюха голубая (*Polemonium caeruleum* L. Род синюха насчитывает около 50 видов, но на территории России произрастает только 15 видов, численность которых в последнее время уменьшается, а заготовка недостаточно эффективна.

Одной из главных задач лекарственного растениеводства является создание новых высокопродуктивных сортов лекарственных растений, где полиплоидия может дать богатый исходный материал за счет размаха наследственной изменчивости, а также может улучшить продуктивность и качество растения. Получение тетраплоидных форм растений, индуцированных колхицином, предполагает их мониторинг в последующих поколениях, чтобы исключить растения с несбалансированными или анеуплоидными геномами и хромосомными нарушениями.

В наших предыдущих работах были получены индуцированные колхицином тетраплоидные растения ($2n = 4x = 36$) *P. caeruleum* и впервые была проведена их морфологическая и цитогенетическая характеристика. На основании полученных результатов были отобраны перспективные тетраплоидные формы синюхи голубой в ряду поколений, дальнейшая цитогенетическая оценка которых представлена в данной работе.

Анализ мейоза показал, что все изучаемые формы синюхи в метафазе I содержали 18 бивалентов (18^{II}). Наряду с нормальным течением мейоза, у тетраплоидных форм синюхи в метафазе-I (M-I) были обнаружены хромосомные ассоциации: квадριваленты, а также были выявлены униваленты, которые находились за пределами метафазной пластинки. В анафазе I у всех форм синюхи, в основном, встречались клетки с нормальным расхождением хромосом к полюсам (18:18), хотя также были обнаружены клетки с нарушениями (отставание хромосом, хаотическое расхождение хромосом, мосты, фрагменты хромосом и т. д.). Процент хромосомных aberrаций у изучаемых форм был в пределах от 2,4% до 3,3% и не выходил за рамки видового полиморфизма. В целом, в поколении C_3 у колхицин-индуцированных форм растений *P. caeruleum* начали проявляться механизмы оптимизации мейоза.

Таким образом, проведенное исследование показало, что для оценки тетраплоидных форм *P. caeruleum* в поколение C_3 необходимо дальнейшее проведение цито-генетических исследований, что позволит включить перспективные формы растений в селекционный процесс с целью создания высокопродуктивных сортов *P. caeruleum*.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-26-00187.



Возможности применения ускоренного выращивания (Speed Breeding) для подсолнечника

Н.Ю. Свистунова¹, А.О. Блинков¹, А.А. Кочешкова¹, С. Радзенице¹, В.Ю. Канунникова¹,
М.Г. Дивашук¹

¹ ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва
alovera3006@gmail.com

Одно из основных направлений селекции подсолнечника-селекция на гетерозис. Получение самоопылённых родительских линий делает селекцию подсолнечника очень длительной, так как требует 6–8 циклов инцухта. Ускоренное выращивание растений, получившее в иностранной литературе термин Speed Breeding — это современный инструмент, направленный на уменьшение времени от посева до уборки и переходу к новой генерации, следовательно, получению наибольшего количества поколений за год [1]. Применение данной технологии позволит ускорить работу над рядом задач в селекции подсолнечника: получению инбредных родительских линий, переводу материнских линий на стерильную основу, интрогрессию генов. Для изучения возможности применения технологии Speed Breeding на подсолнечнике мы использовали сочетание различных условий выращивания.

Объектами исследований были 10 генотипов подсолнечника. Изучение влияния фотопериода на наступление генеративной фазы показало статистически значимое ускорение наступления цветения при коротком фотопериоде (10 ч день и 14 ч ночь). Эксперимент по изучению качества света на скорость зацветания выявил оптимальный уровень PPFD, равный 600–1000 мкмоль/м²/с и PAR регион в диапазоне 400–700 нм без дальнего красного. Для быстрого накопления активных температур растения выращивали при температуре +28 °С днем и +25 °С ночью. Обнаружено положительное влияние объема торфа: более раннее цветение наступает в 2 л. горшках. Данные условия способствовали формированию высокой фертильности пыльцы (90–99%) и завязываемости семян (500–700 шт. на корзину). Для сокращения созревания применяли принудительное высушивание соцветий с незрелыми семенами. Таким образом, уборка растений происходила уже на 75–77 день после посева. Оценка различных подходов преодоления послеуборочного покоя семян подсолнечника выявила эффективный способ посева семян без перикарпия. Применение эмбриокультуры позволило уже на 15 сутки после цветения изолировать зародыши и успешно адаптировать их к почве на 25 сутки после цветения.

[1] Speed Breeding Opportunities and Challenges for Crop Improvement / S. Sharma, A. Kumar, G. Raturi [et al.] // Journal of Plant Growth Regulation. — 2022. — DOI 10.1007/s00344-021-10551-8.

Исследование выполнено при финансовой поддержке государственного задания № FGUM-2022-0008.



Наследование генов гибридного некроза в популяции F₂ льна-долгунца

А.Д. Симагин¹, Е.А. Вертикова¹, А.С. Симагина¹, С.А. Захарова¹

¹ ФГБОУ ВО РГАУ МСХА имени К.А. Тимирязева, г. Москва

alexander.d.simagin@yandex.ru

Аннотация: Представлены результаты научных экспериментов по изучению наследования летальных генов гибридного некроза в популяции сложного гибрида льна-долгунца. Гены *Zeb1* и *Zeb2* в рецессивном состоянии фенотипически вызывали проявление хлоротических растений в популяции. Установлено, что гены взаимодействуют по типу некумулятивной полимерии.

Гены гибридного некроза давно известны ученым-генетикам и практикам селекционерам. Наиболее пристально и подробно изучены гены гибридного некроза у мягкой пшеницы (гены *Ne1* и *Ne2*). Гены гибридного некроза пшеницы вызывают появление растений с разрушающимся в течение онтогенеза хлорофиллом. У этой культуры проявление данного эффекта обусловлено концентрацией генов, при этом данные неаллельные гены взаимодействуют между собой комплементарно, образуя расщепление в популяции в отношении 9:7 [2].

У льна существует несколько генов гибридного некроза. Первым обнаруженным геном гибридного некроза у льна стал ген *ug*, обуславливающий проявление желто-зеленого цвета листьев у молодых побегов. Существуют так же гены *sl1*, *sl2* и *albina*, однако все эти гены являются летальными для всходов и проявляются уже на семядольных листьях [1].

В нашем исследовании в популяции (5*2)*(1*6) проявление хлороза у растений определили на первых настоящих листьях. Следовательно, наиболее подходящие, применительно к данной популяции гены, обуславливающие проявление хлоротичных растений, являются *Zeb1* и *Zeb2*.

Данные гены обнаружены в линиях гк-281 и гк-2. Селекционные линии созданы с помощью мутагенеза и представлены в коллекции Федерального исследовательского центра Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н. И. Вавилова (ВИР).

Изучаемая нами популяция представлена двойным межлинейным гибридом, полученным при гибридизации 4 сортов (Тонус, Надежда, Росинка и Атлант). В F₁ данной популяции не отмечено проявления хлороза у растений. Во втором поколении распределение растений по окраске листьев произошло в следующем соотношении: 897 растений имели зеленую окраску листьев и 61 растение — ярко-белую окраску листьев, то есть практически не содержали хлорофилла. Для оценки фактически полученных чисел растений в определенных фенотипических классах теоретически ожидаемым использовали критерий соответствия Пирсона χ^2 . По результатам статистического анализа установили, что при 5%-м уровне значимости расщепление в популяции льна соответствует соотношению 15:1 и свидетельствует о неаллельном взаимодействии по типу некумулятивной полимерии.

- [1] Пороховинова Е. А. Генетическая коллекция льна (*Linum usitatissimum* L.): создание, анализ и перспективы использования: специальность 03.02.07 «Генетика»: диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук / Пороховинова Елизавета Александровна. — Санкт-Петербург, 2019. — 370 с.
- [2] Пухальский В. А. Сравнительное изучение генетического разнообразия современных сортов яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) России на основе отягощенности их генами гибридного некроза / В. А. Пухальский, Е. Н. Билинская, А. М. Кудрявцев // Генетика. — 2021. — Т. 57, № 8. — С. 925–933. — DOI 10.31857/S0016675821080129.



Изучение роли генов семейства *WOX* в соматическом эмбриогенезе у *Medicago truncatula*

К.В. Смирнов¹, В.Ю. Симонова², В.Е. Творогова³, Л.А. Лутова³

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Пушкин

² Научно-технологический университет «Сириус»

³ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

kirill.vad.smirnov@gmail.com

Транскрипционные факторы (ТФ) являются одними из ключевых регуляторов экспрессии генов. Они регулируют множество клеточных процессов, среди которых клеточное деление, дифференцировка и смерть. Одним из крупных надсемейств эукариотических ТФ являются белки, кодируемые гомеобокс-содержащими генами, среди которых есть семейства, характерные как для животных (HOX, Lim, Pax, POU и др.), так и для растений (KNOX, BEL, HD-ZIP, WOX, PINTOX, PHD и др.) Гены семейства *WOX*, обладающие, помимо высококонсервативного гомеобокса, также рядом других характерных последовательностей, принимают участие в регуляции роста и развития растений на разных стадиях, а также в соматическом эмбриогенезе, процессе, при котором полноценное растение развивается из соматической клетки или группы клеток.

Уже установлено, что сверхэкспрессия *MtWUS*, *MtWOX9-1*, *MtWOX1* (*STENOFOLIA*) увеличивает количество эмбрионов на каллусах у люцерны (*Medicago truncatula*) эмбриогенной линии (R108), а в случае *MtWOX9-1* также индуцирует соматический эмбриогенез у неэмбриогенной линии (108-1).

На настоящий момент в геноме люцерны выявлено 18 генов семейства *WOX*. Целью нашей работы стало изучить и сравнить способность генов данного семейства индуцировать соматический эмбриогенез у неэмбриогенной линии люцерны (108-1).

Выявление ключевых регуляторов соматического эмбриогенеза у растений позволило бы не только упростить работу с растениями в лабораторных условиях, повысить эффективность и скорость регенерации трансформантов, но и дать возможность расширить спектр растений, используемых в биотехнологии, поскольку на настоящий момент для многих видов нет эффективных протоколов регенерации.

Исследования проведены при поддержке гранта Министерства образования РФ на создание научного центра мирового класса «Агротехнологии будущего» (соглашение № 075-15-2022-322 от 22.04.2022).



Использование методов GWAS и геномной селекции для изучения коллекционного и селекционного материала озимой ржи

Н.В. Смирнова¹, Т.В. Семилет¹, О.В. Солодухина¹, С.В. Тоцаков², К.Н. Козлов³, Н.А. Швачко¹,
Е.К. Хлесткина¹

¹ Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Курчатовский геномный центр

³ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого (СПбПУ)

m.s.mirnova@vir.nw.ru

Данное исследование направлено на основную проблему в сфере современной генетики зерновых культур — выявление локусов количественных признаков, ассоциированных с хозяйственно-ценными признаками и анализ геномных районов, значимо ассоциированных с такими признаками. Выявление и маркирование локусов количественных признаков, ассоциированных с хозяйственно-ценными признаками растений, является основой для разработки методов направленного маркер-контролируемого отбора селекционного материала и ускоренной селекции культур.

Рожь (*Secale cereale* L.) — одна из основных зерновых культур продовольственного и кормового назначения с наибольшими посевными площадями в России, Польше и Германии (ФАО). Рожь превосходит другие злаковые культуры не только по холодостойкости, но и по устойчивости к почвенной засухе. В качестве растительного материала в данном исследовании использована расщепляющаяся популяция на основе сорта «Новая Эра», созданная профессором Кобылянским В. Д.

Нами был выполнен полногеномный анализ ассоциаций на выборке из 500 образцов озимой ржи (*Secale cereale* L.). Выборка была генотипирована на базе НИЦ «Курчатовский институт» методом GBS (genotyping by sequencing) и фенотипирована в полевых условиях НПБ «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР». Ассоциативный анализ проводили в программе Tassel 5.0 с использованием статистической модели MLM+K (смешанная линейная модель, учитывающая матрицу родства). Также на данной выборке были построены модели предсказания фенотипических признаков по наборам геномных данных в виде аллельных вариантов в SNP локусах. Для разработки математической модели был использован подход геномной селекции. Возможность прогнозировать сложные признаки по генотипическим данным (маркерам) становится все более важной в селекции растений [1]. Были использованы подходы лучшей линейной несмещенной оценки (BLUP), байесовская регрессия, экстремальное бустинговое дерево. Построены модели геномной селекции для 15 признаков ржи (положительная корреляция на тестовой выборке с p -значением ≥ 0.1), максимальная предсказательная способность моделей (максимум корреляции) составила 88,0%.

[1] Bernardo R. Molecular Markers and Selection for Complex Traits in Plants: Learning from the Last 20 Years // Crop Science. 2008. Vol. 48. P. 1649–1664.



Характеристика образцов *Triticum petropavlovskyi* Udacz. et Migusch. по хозяйственно-ценным признакам и получение гибридных форм *T. petropavlovskyi* Udacz. et Migusch. × *T. aestivum* L. с окрашенным зерном и высокой массой 1000 зерен

К. В. Соболев¹, Т. Т. Ефремова¹, Е. В. Чуманова¹

¹ ИЦиГ СО РАН, Новосибирск
xdertesx@mail.ru

Triticum petropavlovskyi Udacz. et Migusch. — эндемичный вид гексаплоидной пшеницы, встречающийся в дикорастущем виде в Китае. Вид недостаточно изучен и не затронут селекцией. Характеризуется наличием удлиненной колосковой и цветковой чешуй и крупной удлиненной (9–10 мм.), стекловидной зерновки. Обладает зноевыносливостью и солеустойчивостью. Отрицательные признаки — высокорослые растения, неустойчивые к полеганию, восприимчивость к грибным заболеваниям, слабая засухоустойчивость [1].

В работе использовались семь образцов *T. petropavlovskyi* из коллекции ВИР: k-44126, k-43351, k-51763, k-51764, k-51766, k-43376 и КИЗ (№ каталога неизвестен). Все изученные образцы *T. petropavlovskyi* были неустойчивы к бурой листовой ржавчине (4 балла по шкале от 0 до 4) и умеренно устойчивы (5–8 баллов) к мучнистой росе (по шкале СИММУТ от 10 до 0).

Изучено аллельное разнообразие по генам *VRN-1* и продолжительность периода всходы-колошение и отдельных фаз развития. Яровой тип развития образцов k-51763, k-43351 и k-43376 определяется тремя доминантными аллелями *Vrn-A1L*, *Vrn-B1a* и *Vrn-D1a*. k-44126 и k-51766 несут два доминантных аллеля: *Vrn-A1L Vrn-B1a* и *Vrn-A1L Vrn-D1a*. k-51764 и КИЗ являются моногенными носителями *Vrn-A1L* [2]. Наиболее скороспелым оказался образец k-51763 (46–47 дней до колошения), а КИЗ, в свою очередь, наиболее позднеспелым (59–63 дня), имеющий более длительный период до колошения за счет более длительного периода до появления первого узла. Остальные образцы выколашивались не более, чем на 5–6 дней позже k-51763. По показателям продуктивности колоса и растения можно выделить k-51764 с наибольшей массой зерна с колоса и числа зерен с растения.

Известно, что ген *P1* у *T. petropavlovskyi*, отвечающий за формирование длинной колосковой чешуи, сильно коррелирует с размером зерновки. Мы предположили, что при включении в гибридизацию образцов *T. petropavlovskyi* с *T. aestivum* произойдет увеличение размера зерновки. Поэтому были получены гибриды F₁-F₂ от скрещивания *T. petropavlovskyi* k-44126 и *T. aestivum* сорта Мироновская крупнозерная, который также, как и *T. petropavlovskyi*, характеризуется высокой массой 1000 зерен. В результате выделены растения F₂ поколения с массой 1000 зерен 59–61 г, которые были включены в дальнейшую работу.

Получены гибридные растения от скрещивания *T. petropavlovskyi* k-44126 с линией сорта Саратовская 29 с черной окраской зерна (*Ba1* × S29*Pp1Pp3^{PF}*) [3]. Зерна гибридов F₁ имели светло-коричневую окраску, являющуюся результатом сочетанием генов *Ba1*, *Pp1* и *Pp3* в гами- и гетерозиготном состоянии. Среди гибридов F₂ наблюдалось расщепление по окраске зерна на красные, голубые, фиолетовые, светло-коричневые и темно-коричневые (черные). Среди растений F₃₋₄ будут выделены гомозиготные растения с черной и фиолетовой окраской зерна, обладающие крупной зерновкой и высоким содержанием антоцианов.

- [1] Мурашев В. В., Морозова В. А. Морфогенез пшеницы Петропавловского – *T. petropavlovskyi* Udacz. et Migusch. в Подмоскowie; секция *Triticum*: 2n = 42, геномы A⁴BD // Научный альманах. 2019. Т. 55. № 5–2. С. 157–167.
- [2] Chumanova E. et al. Characterization of the *VRN-A1* allele introgressed from *T. aestivum* ssp. *petropavlovskyi* that influences the heading time in bread wheat // Euphytica. 2023. V. 219. 53.
- [3] Efremova T. T. et al. Combining the genes of blue aleurone and purple pericarp in the genotype of spring bread wheat Saratovskaya 29 to increase anthocyanins in grain // J. Cereal Sci. 2023. V. 109. 103616.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ (№ 24-26-20028) и Министерства науки и инновационной политики Новосибирской области (№ p-99).



Новые сорта чечевицы, созданные методом межвидовой гибридизации

Г.Н. Суворова¹, А.В. Иконников¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр зернобобовых и крупяных культур»
galina@vniizbk.ru

Чечевица *Lens culinaris* Medik., как бобовая культура, характеризуется высоким содержанием белка и низким антипитательных веществ. Использование в селекции диких родичей может расширить генетическое разнообразие культурной чечевицы, равно как и повысить потенциал продуктивности.

Род *Lens* Mill. включает в себя 7 таксонов, из которых культурным видом является *L. culinaris*. Гибриды культурной чечевицы получены с различными видами рода. Однако до недавнего времени не было известно о сортах, созданных с участием дикорастущих видов.

В наших исследованиях перспективными для селекционной работы оказались комбинации скрещивания культурной чечевицы с видами *L. orientalis* (Boiss) Hand.-Mazz. и *L. tomentosus* Ladiz., принадлежащими к первичному генетическому пулу рода *Lens*. В результате межвидовой гибридизации и последующей селекционной работы созданы и внесены в Госреестр 2 сорта чечевицы: Восточная — в 2017 году, Фламенко в 2022 году.

Сорт Восточная получен в результате многократного индивидуального отбора на семенную продуктивность из популяции F₂-F₅ (Рауза × *L. orientalis* ILWL7). Гибридизация в данной комбинации была проведена обычным методом. Для преодоления периода покоя семян, свойственного дикорастущему виду, использовали прием проращивания семян F₁ на питательных средах *in vitro*. Сорт Восточная имеет белую окраску цветков и желтую окраску семядолей.

Сорт Фламенко создан в результате многократного индивидуального отбора из популяции F₃-F₆ (Веховская 1 × *L. tomentosus* ILWL120). Для преодоления межвидовой несовместимости использовался метод доращивания изолированных семяпочек в культуре *in vitro*. Сорт Фламенко имеет коричневую окраску семян и желтую окраску семядолей.

В процессе создания сортов чечевицы методом межвидовой гибридизации в нашем случае понадобилось проведение 4-х циклов отбора, начиная со второго гибридного поколения при скрещивания с *L. orientalis*, и с третьего при гибридизации с *L. tomentosus*, чтобы избавиться от нежелательных признаков свойственных диким видам.

Оба сорта по морфологическим характеристикам близки к культурной чечевице. Максимальная урожайность новых сортов была получена в 2019 году и составила у сорта Восточная — 2,37 т/га, Фламенко — 2,68 т/га.



Влияние ризосферных бактерий на относительную экспрессию антистрессовых генов картофеля

О.В. Ткаченко¹, А.Ю. Денисова¹, А.А. Куликов¹, Г.Л. Бурьгин^{1, 2, 3}, Н.В. Евсева²

¹ ФГБОУ ВО Вавиловский университет, г. Саратов

² ИБФРМ РАН, г. Саратов

³ ФГБОУ ВО СГУ имени Н.Г. Чернышевского, г. Саратов

oktkachenko@yandex.ru

Ризосферные стимулирующие рост растений бактерии (PGPR) способны повышать темпы роста микрорастений картофеля, а также регулировать гормональную систему и оказывать протекторное влияние при действии стресса, в том числе осмотического. Это проявляется в изменении содержания в тканях гормонов (ИУК, этилена, АБК, жасмоновой кислоты и ее предшественников) и антиоксидантных ферментов. Ранее нами была проведена комплексная морфометрическая и биохимическая оценка эффективности ко-инокуляции *in vitro* микрорастений картофеля сортов Невский и Кондор ризобактериями *Azospirillum baldaniorum* Sp245 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2, а также *Azospirillum baldaniorum* Sp245 и *Kocuria rosea* T1Ks19. Установлено положительное влияние ризобактерий в процессе адаптации микрорастений картофеля в условиях аэропоники. Кроме того, были изучены механизмы антистрессовой защиты микрорастений картофеля сорта Невский, инокулированных *in vitro* ризобактериями *Azospirillum baldaniorum* Sp245 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2, в условиях осмотического стресса, моделируемого путем введения в состав питательной среды полиэтиленгликоля (ПЭГ 6000).

На данном этапе исследований методом ОТ ПЦР РВ получены данные об уровне относительной экспрессии ряда генов картофеля, связанных с биосинтезом гормонов и ответом на стресс, на 30 сутки культивирования *in vitro* и в процессе адаптации к условиям аэропоники на 10 и 20 сутки выращивания.

В качестве эталонного гена использовали ген β -тубулина картофеля (TUB). Уровень относительной экспрессии оценивали для генов: StLOX и StAOS3 (связаны с биосинтезом жасмоновой кислоты), StERF и StEBF (биосинтез этилена), StABF2, StC707A и StLtp1 (образование АБК) StAMI (синтез ИУК). Относительный уровень экспрессии рассчитывали по методу 2- $\Delta\Delta$ Ct.

Полученные данные показывают, что инокуляция бактериями растений картофеля приводила в большей степени к повышению активности экспрессии генов, связанных с биосинтезом абсцизовой кислоты, как в условиях стресса, так и при адаптации в аэропонной системе. Например, у сорта Невский уровень относительной экспрессии генов StABF2, StC707A и StLtp1 значительно увеличивался на 10 сутки адаптации, что говорит об усилении стрессового воздействия после переноса растений в условия *ex vitro* и постепенном его снижении к 20 суткам. Значительного увеличения относительной экспрессии генов биосинтеза жасмоновой кислоты, связанной с липоксигеназным метаболизмом, не обнаружено. Уровень биосинтеза этилена был выше в условиях *in vitro* у сорта Невский и снижался по мере адаптации растений в аэропонике, но у сорта Кондор к 20 суткам наоборот нарастал. Уровень экспрессии гена StAMI, связанного с синтезом ИУК, у обоих сортов увеличивался на 10 сутки выращивания растений в аэропонике, что, вероятно, связано с стимулированием корнеобразования на этом этапе.

Таким образом, по сравнению с контролем инокуляция микрорастений картофеля ризобактериями приводила к повышению в большей степени ответной реакции генов, связанных с биосинтезом АБК, что, вероятно, свидетельствует о процессах преодоления стресса. Уровень экспрессии этих генов был максимальным на 10 сутки адаптации, но затем снижался к 20 суткам выращивания в аэропонике. Биосинтез ИУК увеличивался на 10 или 20 сутки выращивания в аэропонике.

Данная работа была выполнена при частичной поддержке грантов РФФИ 19-016-00116 и РНФ 22-26-00087.



Молекулярные маркеры в идентификации генов устойчивости растений к болезням

Л.Г. Тырышкин¹

¹ Всероссийский Институт Генетических Ресурсов Растений
tyryshkinlev1961@gmail.com

Генетическое разнообразие злаков по эффективной резистентности к грибным болезням крайне узко. Образцы, обладающие устойчивостью, могут потерять ее в результате изменения популяций возбудителей, а также изменения условий среды. Знание генетики устойчивости у вовлекаемого в селекцию материала — необходимая предпосылка рационального использования имеющихся генов. Классические методы идентификации таких генов — гибридологический и фитопатологический — имеют ряд недостатков. Последние несколько десятков лет для определения наличия генов резистентности широко используется анализ наличия/отсутствия или размеров продуктов амплификации после ПЦР со специфическими праймерами. Ранее в нашей работе было показано, что этот подход может приводить к ошибочной постуляции аллелей устойчивости с высокой частотой. В работе представлены данные по проверке эффективности молекулярного маркирования в идентификации разных генов резистентности у трех культур.

1. В гибридных популяциях от скрещивания сорта Сибирская 17 (ген устойчивости к листовой ржавчине *Lr9*) с сортами *Scua* (*Lr24*) и *Pavon* (*Lr47*) провели анализ устойчивости к болезни индивидуальных растений, а также наличие высокоспецифичных по литературным данным продуктов амплификации. Выявлены устойчивые растения, у которых отсутствовали ампликоны после ПЦР с 3-мя парами праймеров (при отсутствии знания происхождения растений был бы сделан вывод о наличии у них новых, неизвестных ранее эффективных генов устойчивости к ржавчине), а также восприимчивые растения, у которых имелись ампликоны, специфичные для носителей генов *Lr24* и *Lr47*.

2. Заразили образцы пшеницы и тритикале, у которых по данным молекулярного маркирования в литературе постулировано наличие гена *Lr26*. Наличие специфических ампликонов подтверждено для всех образцов пшеницы. Все образцы поражались клонами возбудителя ржавчины, то есть не могут иметь функционального аллеля гена.

3. Оценили устойчивость к темно-бурой листовой пятнистости образцов ячменя, у которых по литературным данным после ПЦР с парой праймеров идентифицируется маркер высокоэффективного гена резистентности. Наличие ампликона подтверждено для всех генотипов. При этом все образцы были восприимчивы к болезни.

Полученные данные указывают на невозможность идентификации генов устойчивости 3-х культур только на основе молекулярного маркирования. Анализ немногочисленных литературных источников, в которых помимо молекулярного, проводился также и фитопатологический анализ материала, указывает на несовпадение результатов двух методов, хотя авторы работ не замечают (скорее предпочитают не замечать) этих противоречий.



Влияние наночастиц оксида меди на некоторые показатели роста растений березы в культуре *in vitro*

О.А. Федорова¹, Т.А. Гродецкая¹, П.М. Евлаков¹

¹ ФГБОУ ВО Воронежский государственный лесотехнический университет имени Г.Ф. Морозова, Воронеж
fed-olga78@mail.ru

Питательные среды, используемые в технологии клонального микроразмножения древесных растений, содержат в составе сбалансированный комплекс компонентов, необходимых для развития растительных клеток. Данный комплекс состоит в основном из макроэлементов (азот, фосфор, калий, кальций, магний, железо), микроэлементов (бор, марганец, цинк, молибден, медь и др.), а также витаминов, углеводов, аминокислот, хелатирующих агентов и др. В работе приводятся данные по замене ионной формы меди в составе питательной среды Мурасиге-Скуга на форму наночастиц оксида меди на стадиях мультипликации и ризогенеза. Изучены биологические эффекты действия наночастиц на побегах перспективных биотипов березы пушистой (*Betula pubescens* Ehrh.) «15-1» и повислой (*B. pendula* Roth.) «УГ-1», предварительно отобранных как адаптивно-способных к условиям засухи и промораживания. Согласно литературным данным, металлы в форме наночастиц имеют низкую токсичность — в 7–50 раз меньше токсичности металлов в ионной форме, обладают пролонгированным и полифункциональным действием в дозах в 10–50 раз меньше максимально переносимых доз, стимулируют обменные процессы, способны проникать в органы и ткани. Установлено, что при выращивании березы пушистой «15-1» на питательной среде, содержащей вместо меди в ионной форме (CuSO_4) наночастицы оксида меди в концентрации 0,00016 и 0,0008 мг/л, высота побега после трех недель ведения эксперимента увеличивалась на 89 и 13%, соответственно, по сравнению с контролем. Коэффициент мультипликации при этом возрастал до 10 и 32%, соответственно. Необходимо отметить, что положительный эффект на стадии мультипликации наблюдался при использовании наночастиц оксида меди в концентрациях в 50 и 10 раз более низких, чем концентрации меди в ионной форме в составе стандартной питательной среды Мурасиге-Скуга. Использование тех же концентраций на стадии ризогенеза показало увеличение числа укоренившихся растений, а также числа корней на одно растение на 18 и 3%, соответственно. В опыте с растениями березы повислой «УГ-1» не отмечено значительных отличий в показателях роста и укоренении при замене ионной формы металла на форму наночастиц. В результате использования наночастиц оксида меди в составе стандартных питательных сред может быть получен качественный посадочный материал с высокими показателями роста и активной корневой системой.



Профили коэкспрессии генов рециклинга витамина С коррелируют с содержанием аскорбата в листьях лука-порей

М.А. Филюшин¹

¹ ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

michel7753@mail.ru

Витамин С является одним из основных антиоксидантов растений, напрямую нейтрализуя некоторые активные формы кислорода. На сегодняшний день пути биосинтеза и рециклинга аскорбата хорошо изучены у ряда модельных объектов, а также некоторых плодовых и овощных культур. Лук-порей является богатым источником витамина С, однако биосинтез аскорбата у лука-порей и гены путей биосинтеза ранее не изучались.

С целью поиска взаимосвязи между содержанием аскорбата и транскрипцией структурных генов его биосинтеза был проведен биохимический и экспрессионный анализ 20 гибридов лука-порей. На основе биохимического анализа проростков были выделены группы образцов с высоким и низким содержанием аскорбата. Затем были проанализированы взрослые растения лука-порей (листья и ложный стебель), по два образца из групп с низким и с высоким содержанием аскорбата в проростках. Интересно, что у образцов лука-порей, у которых в проростках выявлено повышенное содержание аскорбата, в листьях взрослых растений также наблюдается повышенное содержание витамина С. Аналогичные данные получены для растений из группы с низким содержанием аскорбата.

У анализируемых образцов лука-порей были изучены профили коэкспрессии всех генов биосинтеза (L-галактозный путь) и рециклинга (аскорбат-глутатионовый цикл) аскорбата в проростках и во взрослых растениях. В результате экспрессионного анализа и в проростках, и во взрослых растениях наблюдается четкое разделение образцов лука-порей на две группы, согласно содержанию аскорбата. Была выявлена высокая корреляция уровней экспрессии генов рециклинга *APX2*, *MDHAR1* и *MDHAR4* и содержания аскорбата в листьях образцов лука-порей ($r = 0.94, 0.95$ и 0.74 , $p\text{-value} < 0.01$).

Таким образом, на основе проведенного биохимического и экспрессионного анализа показано, что паттерн «содержание аскорбата-коэкспрессия генов рециклинга» сохраняется в процессе онтогенеза.

Работа была выполнена при поддержке гранта НЦМУ «Агротехнологии будущего» № 075-15-2022-318 от 20.04.2022.



Разнообразие автофертильных линий ржи *Secale cereale* L. по ювенильной устойчивости к грибным болезням

Н.В. Цветкова¹, Л.Г. Тырышкин², А.В. Войлоков³

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

² Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург

³ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

m.t.swetkova@spbu.ru

Развитие грибных болезней является серьёзным фактором, приводящим к снижению урожайности пшеницы и тритикале, а также ухудшению качества зерна. К числу основных листовых болезней у этих культур относят поражение растений фитопатогенными грибами: листовой ржавчиной (*Puccinia triticina* Erikss.) и темно-бурой листовой пятнистостью (*Bipolaris sorokiniana* (Sacc.)). В настоящее время в каталоге генов пшеницы доступна информация о генах устойчивости к этим болезням, многие из них интрогрессированы из других видов злаков [1]. Запас эффективных генов устойчивости ограничен, поэтому поиск источников устойчивости среди близкородственных видов сохраняет свою актуальность.

Генетическое разнообразие по эффективной устойчивости к вредоносным болезням у аллогамного вида *Secale cereale* L. можно оценить, используя автофертильные линии из Генетической коллекции ржи [2]. Нами проведен анализ устойчивости 97 инбредных линий ржи к возбудителям листовой ржавчины и темно-бурой листовой пятнистости. Получены сведения о различных типах реакции линий ржи на заражение фитопатогенными грибами. Проведен генетический анализ ювенильной устойчивости к листовой ржавчине и темно-бурой листовой пятнистости, установлено количество генов, участвующих в формировании признака. Инбредные линии ржи, иммунные к листовой ржавчине пшеницы, могут быть рекомендованы как источники генов устойчивости при создании исходного материала для селекции пшеницы и тритикале.

[1] McIntosh R. A., Yamazaki Y., Dubcovsky J., Rogers J., Morris C., Appels R., Xia X. C. Catalogue of Gene Symbols for Wheat 2013.

[2] Andreeva E.; Burlakovskiy M.; Buzovkina I.; Chekunova E. et al. Genetic Collections of St. Petersburg University. *Biological Communications* 2023, 68, 3, 199–214.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Министерства науки и высшего образования РФ для государственной поддержки создания и развития Научного центра мирового уровня “Агротехнологии будущего” № 075-15-2022-322.



Направления селекции ежи сборной в условиях Центрального Предкавказья

В.В. Чумакова¹, Т.М. Миронова¹, М.В. Деревянникова¹, В.Ф. Чумаков¹

¹ ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр»

v. chumakova@fnac.center

Представлены основные результаты селекционной работы с ежой сборной и определены эффективные направления селекции культуры в условиях Центрального Предкавказья.

Многолетние травы позволяют решать проблемы получения наиболее дешевых и сбалансированных по составу кормов, устранить ряд деструктивных процессов и сохранить продуктивность земель. Среди многолетних злаковых трав одним из наиболее востребованных видов является ежа сборная (*Dactylis glomerata* L.). Эта культура характеризуется устойчивостью в монокультуре и в составе поливидовых сенокосно-пастбищных травостоев, отличается долголетием, высокой экологической пластичностью и конкурентоспособностью.

Селекционная работа с ежой сборной в ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр» ведется с середины 80-годов прошлого столетия. В результате многолетней работы по поиску и созданию нового исходного материала был сформирован широкий генофонд, включающий более 5000 форм различного эколого-географического происхождения. В Государственный реестр селекционных достижений было внесено в различные годы 6 сортов с допуском использования в сельскохозяйственном производстве юга России.

В селекции культуры был использован комплекс методов, основанных на изучении интродукционной способности культурного и дикорастущего материала, установлении внутри- и межпопуляционной изменчивости вида, создании новых синтетических и сложногибридных популяций и поддержании их гетерозисности по многим генам.

В ряду важнейших направлений селекции ежи сборной было выделено несколько основных, которые можно считать наиболее актуальными в работе с культурой.

1. Селекция на урожайность — основной критерий оценки сорта, который вбирает в себя все ценные селекционные признаки. Наибольший результат повышения показателя урожайности новых сортов ежи сборной был достигнут при использовании эффекта гетерозиса на основе поликроссного скрещивания подобранных родительских форм с учетом их количества и эколого-географического происхождения.

2. Целевая селекция на качество кормовой массы и семенного материала, устойчивость к воздействию естественных и антропогенных факторов: болезни, вредители, холодостойкость, морозоустойчивость, засухоустойчивость и другие.

3. Симбиотическая, биоэнергетическая, экотипическая, фитоценотическая и другие современные направления селекции культуры, позволяющие включать в модель нового сорта физиологические и генетические особенности селектируемого материала и дальнейшего конструирования адаптивных агроценозов.



Характеристика яровых линий мягкой пшеницы с черной окраской зерна с целью их использования в селекции сортов пшеницы с повышенным содержанием антоцианов

Е. В. Чуманова¹, Т. Т. Ефремова¹, К. В. Соболев²

¹ ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

² Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск

chumanova@bionet.nsc.ru

Антоцианы являются биологически активными соединениями, употребление в пищу которых снижает риски возникновения целого ряда заболеваний человека [1]. Получение сортов и линий с окрашенным зерном (голубым, фиолетовым, черным) является мировым трендом в селекции злаков. Голубая окраска зерна связана с накоплением антоцианов в алейроновом слое и контролируется генами *Va*. Фиолетовая окраска обусловлена синтезом антоцианов в клетках перикарпа и контролируется комплементарным взаимодействием генов *Pp1* и *Pp3*. Черный цвет зерновки пшеницы является результатом сочетания генов, определяющих фиолетовую окраску перикарпа и голубую окраску алейронового слоя.

Нами получены четыре гомозиготные линии сорта Саратовская 29 (S29) с черной окраской зерна путем гибридизации голубозерной пшенично-пырейной (*Triticum aestivum* L. — *Thinopyrum ponticum* (Podp.) Barkworth & D. R. Dewey) замещенной линии геном *Ba1* и фиолетовозерных изогенных линий сорта S29: *i: S29Pp-D1Pp3^P* и *i: S29Pp-D1Pp3^{PF}* (доноры генов *Pp* сорта Purple и Purple Feed, соответственно) [2]. Большинство изученных растений (80–90%) с черной окраской зерна в каждой из четырех гибридных комбинаций F₄ поколения оказались дисомными (2n = 42). Изучение локализации антоциановых пигментов в зерновке проводилось путем анализа поперечных срезов на стадии восковой спелости. У изученных линий в клетках алейронового слоя наблюдали скопление мелких синих включений, а в перикарпе накопление красно-коричневых пигментированных структур, содержащих антоцианы. Использование ДНК-маркеров *ThMYC4E*, *Pp1-diagnostic* и *Pp3-diagnostic*, разработанных к генам биосинтеза антоцианов [3,4], подтвердило присутствие доминантных аллелей генов *Ba1*, *Pp-1* и *Pp3* у полученных линий с черной окраской зерна. Содержание антоцианов у индивидуальных растений с черной окраской зерна (145,5–241,3 мкг/г) оказалось выше, по сравнению с исходными родительскими линиями с голубой и фиолетовой окраской зерна. У линий с голубой, фиолетовой и черной окраской относительно S29 выявлено повышение содержания К и Mn, а в зерне с черной окраской, еще и Fe и Na. По сравнению с голубозерной и фиолетовозерными линиями в зерне растений с черным зерном обнаружено повышение содержания Ca и Zn.

Полученные линии с черной окраской зерна планируется использовать для гибридизации с районированными сортами с целью создания исходного материала для селекции, обладающего высоким содержанием антоцианов и комплексом хозяйственно-ценных признаков.

- [1] Gonçalves A. C. et al. Dietary effects of anthocyanins in human health: A comprehensive review // Pharm. 2021. Vol. 14. № 7. P. 690.
- [2] Efremova T. T. et al. Combining the genes of blue aleurone and purple pericarp in the genotype of spring bread wheat Saratovskaya 29 to increase anthocyanins in grain // J. Cereal Sci. 2023. Vol. 109. 103616.
- [3] Li N. et al. *ThMYC4E*, candidate *Blue aleurone 1* gene controlling the associated trait in *Triticum aestivum* // PLoS One. 2017. Vol. 12 № 7. e0181116.
- [4] Gordeeva E. et al. Fine points of marker-assisted pyramiding of anthocyanin biosynthesis regulatory genes for the creation of black-grained bread wheat (*Triticum aestivum* L.) lines // Agronomy. 2022. Vol. 12. № 12. 2934.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ (№ 24-26-20028) и Министерства науки и инновационной политики Новосибирской области (№ p-99).



Репароген модификатор пара-аминобензойная кислота (ПАБК)

Н.С. Эйгес¹, Д.Р. Барановский², А.Р. Барановский-Рапопорт³, П.Н. Романов⁴

¹ Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля (ИБХФ) РАН

² ООО «ИНОТЕХ-СЕРВИС»

³ ООО «Русские Инженерные Традиции»

⁴ АО «Воскресенское»

volchenkos@mail.ru

Химическое соединение, вызывающее ненаследственную изменчивость — ПАБК, один из наиболее ярких модификаторов, открытых И. А. Рапопортом, вызывает модификации (морфозы) наиболее часто и с наибольшим разнообразием признаков в сравнении с иными модификаторами.

Рапопорт установил, что механизм действия ПАБК — активация жизненно важных ферментов (ДНКазы, РНКазы, ДНК-полимеразы и другие) при вступлении с ними в комплексы [1] без валентных связей. Активируя ДНК-полимеразу ПАБК восстанавливает нарушения ядерного аппарата клетки, вызываемые ультрафиолетом и мутагенами [2] — разрывы и перестройки хромосом, является генетически значимым веществом антимуагеном репарогеном.

Настоящее исследование посвящено изучению влияния ПАБК на зерновые культуры. В модельных и производственных экспериментах показано, что при широком влиянии на ферменты ПАБК положительно действует фактически на все элементы структуры урожая, повышая их значения. Особенно сильно ее влияние на продуктивную кустистость. Оно составляет 80–100% и более по отношению к контролю и является основой повышения урожая у этих культур на 30–50%. Высокая продуктивная кустистость определила высокую регенерационную способность, адаптивные свойства, что мы неоднократно наблюдали. Действием ПАБК вызывается густой стеблестой, обеспечивающий профилактическую защиту окружающей среды от гербицида. При определенном изменении от ПАБК морфологии и фенологии растения озимой пшеницы, осуществляется один из резервов повышения ее урожая, качества зерна, его кондиционных свойств. Последнее позволяет использовать ПАБК в семеноводстве. Это особенно эффективно при неблагоприятных внешних условиях, которые подавляют ферменты.

Разработан технологичный способ предпосевной обработки семян ПАБК в производстве. ПАБК открывает полезную эффективность действия высоких доз этиленimina, повышая выживаемость растений после обработки им семян, открывает генные мутации, скрытые повреждением ядерного аппарата клетки, которые могут пополнить нашу коллекцию селекционно-ценными хемомутантами.

Ценные модификации от ПАБК являются фенокопиями тех же ценных наследственно измененных признаков, полученных от этиленimina. Они используются в сельском хозяйстве.

В 1993 г. ПАБК решением Минсельхоза внедрена в сельскохозяйственное производство. Теперь она не производится в РФ. Но мы постоянно используем ее в наших исследованиях. ПАБК антиоксидант не токсичное вещество, входящее в состав ряда медицинских препаратов. Нетоксичность ПАБК подтверждается исследованиями Института стандартизации и контроля.

[1] Кожевникова Н. А., Рапопорт И. А., Иваницкая Е. А., Пудрина И. Д. Влияние пара-аминобензойной кислоты на активность дезоксирибонуклеазы интактного и облученного препарата // Докл. АН СССР. 1983. Т. 273, № 2. С. 476–479.

[2] Рапопорт И. А., Васильева С. В., Давниченко Л. С. Роль пара-аминобензойной кислоты в репарации повреждений, индуцированных УФ- и γ -излучениями // Докл. АН СССР. 1979. Т. 247. № 1. С. 231–234.



Изучение репитома *H. alpinum* и FISH-картирование маркерных сателлитных ДНК на хромосомах видов рода *Hedysarum*

О.Ю. Юркевич¹, Т.Е. Саматадзе¹, А.Р. Семенов¹, С.А. Зошук¹, А.В. Амосова¹, О.В. Муравенко¹

¹ Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

olikys@gmail.com

Род *Hedysarum* L. включает несколько лекарственных видов, у которых выявлено 155 биологически активных соединений, в том числе флавоноиды, ксантоны, дубильные вещества, эфирные масла. Эти соединения обуславливают иммуномодулирующие, противовирусные и противоопухолевые свойства копеечников. Широко распространенный копеечник альпийский (*Hedysarum alpinum* L.) содержит мангиферин, обладающий противовирусной активностью в отношении ДНК-содержащих вирусов. Высокая потребность в качественном фармацевтическом сырье нуждается в создании высокопродуктивных сорто-популяций лекарственных растений. Это требует изучения их генетики и геномики, которое невозможно без анализа хромосомной структуры кариотипов.

Комплексное исследование генома лекарственного вида *H. alpinum* из секции *Hedysarum* с использованием новейших технологий NGS-секвенирования и FISH позволило дать его всестороннюю цитогенетическую характеристику, а также родственных ему видов *H. hedysaroides* (L.) Schinz et Thell., *H. arcticum* V. Fedtsch.

Для изучения репитомов и выявления новых молекулярных маркеров хромосом впервые проведено секвенирование генома *H. alpinum* по технологии BGI на основе NGS. По данным программы RepeatExplorer большую часть повторяющейся ДНК составляют мобильные элементы, 45,44% относятся к мобильным элементам класса 1, а около 7,44% — к мобильным элементам класса 2. Сателлитные повторы составляют небольшую долю от генома — 1,33%. В результате проведенного нами анализа с помощью программы RepeatExplorer/TAREAN было идентифицировано несколько перспективных ДНК повторов, хромосомная локализация которых была изучена у *H. alpinum* и родственных видов. По данным FISH, четыре tandemных повтора показали центромерную локализацию на хромосомах всех изученных видов *Hedysarum* ($2n = 14$), что позволило уточнить морфологию хромосом в кариотипах. Два коротких tandemных повтора локализовались прицентромерно только на спутничной хромосоме. FISH-картирование выявило два сателлитных повтора, которые можно использовать для характеристики кариотипов *H. alpinum* и других видов секции *Hedysarum*, а также для оценки внутри- и межвидовой вариабельности.

Благодарности: Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 23-26-00037.



Цитогенетическое исследование *Thinopyrum caespitosum*

А. И. Юркина¹, В. М. Соколова¹, П. Ю. Крупин¹, Д. С. Ульянов¹, М. Г. Дивашук¹, Г. И. Карлов¹

¹ ФГБНУ ВНИИСБ

3197@gmail.com

Цитогенетическое изучение представителей рода *Thinopyrum* на сегодняшний день важно и актуально, так как они характеризуются ценным генетическим разнообразием, которое может быть использовано для селекционного улучшения культурных злаков. Растения данного рода обладают генами, которые отвечают за важные агрономические качества, включая устойчивость к болезням, способность переносить засуху и засоление [1, 2]. Изучение репитомов этих растений может способствовать не только интрогрессии ценного хроматина в геном культурных видов, но и более глубокому пониманию эволюции геномов рода *Thinopyrum*. Объектом нашего исследования является пырей дернистый *Thinopyrum caespitosum* — тетраплоидная многолетняя трава с геномной формулой J^eSt (E^eSt). Для поиска тандемных повторов было осуществлено полногеномное секвенирование изучаемого образца *Th. caespitosum* PI547344 (2n = 2x = 28) и после биоинформатического анализа репитома было выявлено 19 повторов. Для локализации на хромосомах исследуемого вида при помощи флуоресцентной *in situ* гибридизации нами были отобрано четыре повтора, имеющих гомологию к повторам, найденных нами ранее в геноме других видов рода *Thinopyrum* — CL44, CL148, CL149, CL198.

Повтор CL44 локализуется прицентромально на восьми парах хромосом *Th. caespitosum*, а также на двух парах имеется дополнительный минорный сигнал в субтеломерной области. CL148 имеет четкую локализацию на одной паре. CL149 дает минорные сигналы у двух пар хромосом в субтеломерной области. Повтор CL198 локализуется на трех парах хромосом в прицентромальной области. В результате сравнительного анализа копийности и хромосомной локализации выявленных повторов между различными видами *Thinopyrum* было установлено, что *Th. caespitosum* мог произойти от популяции диплоидного вида *Th. bessarabicum* и, вероятно, участвовал в образовании декаплоидного вида *Th. ponticum*. Разработанные хромосомные маркеры могут быть использованы для мониторинга интрогрессий хромосом *Th. caespitosum* при отдаленной гибридизации.

- [1] De Pace C., Vaccino P., Cionini P. G., Pasquini M., Bizzarri M., Qualset C. O. Dasyphyrum. In: Kole, C. (eds) Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources. Springer, Berlin, Heidelberg. — 2011. — P. 185–292.
- [2] Юркина А. И., Крупин П. Ю., Карлов Г. И., Дивашук М. Г. Пшенично-пырейные гибриды — культура для устойчивого развития сельского хозяйства: обзор // Кормопроизводство. — 2023. — № 9. — С. 16–22.

Симпозиум 11: Мутации, рекомбинация, репарация
Symposium 11: Mutations, DNA Repair and Recombination



Изменение активности ДНК-полимеразы β человека вследствие возникновения природных однонуклеотидных мутаций

О.А. Кладова¹, Т.Е. Тюгашев¹, А.А. Мирошников¹, Д.С. Новопашина¹, Н.А. Кузнецов¹, А.А. Кузнецова¹

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского Отделения Российской Академии Наук,
630090, Новосибирск, проспект академика Лаврентьева 8

kladova@niboch.nsc.ru

Сохранение генетической информации в живых клетках является залогом их стабильного функционирования. В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что повреждение ДНК играет большую роль в развитии различных заболеваний, в том числе рака. Для поддержания стабильности генома в клетках живых организмов существуют различные ферментативные системы репарации ДНК. В то же время появление природных однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в генах ферментов репарации ДНК, в том числе в гене ДНК-полимеразы β (Pol β), может снизить общую эффективность репарации повреждений. Pol β считается основной ДНК-полимеразой, участвующей в пути эксцизионной репарации оснований ДНК, и играет важную роль в переносе правильного дезоксирибонуклеотидмонофосфата (dNMP) на матрицу ДНК. Замены аминокислотных остатков, связанных с SNP, могут вызывать как потерю функциональных свойств самого фермента, так и нарушение координации между белками, участвующими в процессе репарации. В этом исследовании был проведен биоинформатический анализ известных природных однонуклеотидных замен в гене Pol β . Было идентифицировано 196 SNP в кодирующей части гена Pol β , которые вызывают изменение класса аминокислотных остатков (миссенс мутации), а значит, могут влиять на различные аспекты функционирования фермента. С использованием методов прогнозирования эффектов миссенс мутаций было отобрано 11 замен аминокислотных остатков, имеющих высокую степень негативного влияния на функционирование Pol β . Часть из этих мутаций была обнаружена в базах данных мутаций, обнаруженных у пациентов с различными видами онкологических заболеваний. Активность 11 природных мутантных форм Pol β была подробно проанализирована с использованием молекулярно-динамического моделирования и подходов предстационарной кинетики. Установлено, что все исследованные замены аминокислотных остатков приводят к снижению эффективности комплексообразования с ДНК и dNTP. Более того, несколько полиморфных мутантов Pol β обладали сниженной каталитической активностью, то есть являются менее активными ДНК-полимеразами, чем фермент дикого типа. Из полученных данных следует, что пониженная активность исследованных мутантных форм может быть связана с повышенным риском повреждения генома.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект 21-74-10103.



Локализация белка RecN *E. coli* в процессе SOS-ответа, вызванного одиночным разрывом ДНК

В.Д. Рощектаева¹, Н.Е. Морозова¹, М.А. Ходорковский¹, А.Д. Ведяйкин¹

¹ Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого (СПбПУ)

victoria.rd@yandex.ru

SOS-ответ — это процесс, который возникает в бактериальной клетке при повреждении ДНК, вызванном ультрафиолетом или антибактериальными средствами. Активация SOS-ответа может привести к точному восстановлению поврежденных участков ДНК и адаптации бактерии к вредному воздействию [1]. Таким образом, SOS-ответ играет важную роль в адаптации бактерий к антибиотикам, что является актуальной проблемой современной медицины.

Белок RecN является одним из ключевых факторов успешного протекания данного процесса и действует на ранней стадии SOS-ответа [2]. Также данный белок относится к SMC-белкам (Structural Maintenance of Chromosomes) — семейству АТФаз, принимающих участие в динамическом регулировании организации структуры хромосом [3]. Современные знания об активности белка RecN ограничены в основном *in vivo* данными [4–5], которые показывают необходимость белка для правильной реализации SOS-ответа и успешной репарации ДНК бактерий, а также, что белок RecN обладает схожими с SMC-белками механизмами действия. Однако функции и механизмы действия белка RecN до сих пор не изучены в достаточной мере. В рамках данной работы производилось выяснение локализации флуоресцентно-меченного RecN *E. coli* внутри бактерии во время SOS-ответа, вызванного одиночным разрывом ДНК.

- [1] Podlesek Z., Žgur Bertok D. The DNA Damage Inducible SOS Response Is a Key Player in the Generation of Bacterial Persister Cells and Population Wide Tolerance. *Front Microbiol.* 2020 Aug 4;11:1785.
- [2] Odsbu I., Skarstad K. DNA compaction in the early part of the SOS response is dependent on RecN and RecA. *Microbiology.* 2014 May; 160 (Pt 5):872–82.
- [3] Reyes E. D., Patidar P. L., Uranga L. A., Bortoletto A. S., Lusetti S. L. RecN is a cohesin-like protein that stimulates intermolecular DNA interactions *in vitro*. *J Biol Chem.* 2010 May 28;285(22):16521–9.
- [4] Alonso, J. C. et al. Early steps of double-strand break repair in *Bacillus subtilis*. *DNA Repair* 12, 162–176, 2013.
- [5] Ayora, S. et al. Double-strand break repair in bacteria: a view from *Bacillus subtilis*. *FEMS Microbiol. Rev.* 35, 1055–1081, 2011.

Исследование выполнено за счет гранта РФФИ (проект № 22-74-00072).



Цитогенетические механизмы гибридной стерильности у самцов гибридов F_1 между *Mus musculus wagneri* и *M. spicilegus* в связи с проблемами таксономии формы *wagneri*

Л.Д. Сафронова¹, В.М. Малыгин², А.А. Мальцев³, Е.В. Котенкова³

¹ ИПЭЭ Москва 2МГУ Москва 3ИБР Москва

seg06@rambler.ru

Представления о таксономии домашних мышей, относимых к форме *wagneri*, противоречивы. Их оценивают вместе с «*hortulanus*» (syn. *spicilegus*) как таксоны «*natio*» в составе подвида *Mus musculus hortulanus* (Аргиропуло, 1940), придают видовой ранг (Спиридонова и др., 2008), рассматривают как подвид *Mus musculus wagneri* (Лавренченко, 1994; Богданов и др., 2020), не признают в качестве подвида, полагая, что это младший синоним номинативного подвида (Musser, Carleton, 2005). А по экстрактерным признакам (короткохвостые, светлобрюхие мыши) и экологическим предпочтениям (аборигенные мыши степных и полупустынных ландшафтов Северной Палеарктики) они сходны с курганчиковой мышью, *M. spicilegus*. Экспериментальная гибридизация позволяет изучать механизмы репродуктивной изоляции и, соответственно, уточнить таксономический статус сомнительных форм. Цель исследования, на основе данного подхода, — выяснить таксономическое положение формы *wagneri* и *M. spicilegus*, изучая цитогенетические механизмы гибридной стерильности у гибридов F_1 . Исследовали стерильных половозрелых самцов: гибридов F_1 от скрещивания самца формы *wagneri* из Астраханской обл. и самки *M. spicilegus* из Ростовской обл. ($n = 2$) — прямое скрещивание, 2 самца гибрида F_1 в реципрокной комбинации скрещивания. Контролем были родительские формы. Изучали митоз (СМ), акцентируя внимание на особенностях локализации гетерохроматина (ГХР), а главное, стадии профазы 1 мейоза: диакинез, пахитену. У самцов гибридов F_1 от прямого варианта скрещивания обнаружено относительно большое число клеток на стадии диакинеза. Среди них преобладали, за счет диссоциации половых хромосом, деления с 21-й и значительно реже — деления с 22-й мейотическими фигурами. Обнаружили диссоциацию не только половых хромосом, но и одного из аутосомных бивалентов. У самцов гибридов F_1 ($n = 2$), полученных при реципрокном варианте скрещивания, наблюдали значительно меньшее число диакинезов, среди которых также преобладали деления с диссоциированными половыми хромосомами, но у них отсутствовали деления с диссоциированными аутосомными бивалентами. Не исключено, что обнаруженные на стадии диакинеза профазы 1 различия в степени выраженности мейотических нарушений у исследованных гибридов F_1 при прямых и реципрокных вариантах скрещиваний, связаны с их отличиями в локализации ГХР. Подтверждено наличие сходных мейотических аномалий у гибридов F_1 на стадии пахитены профазы 1. На этой стадии мейоза наблюдали также ассоциацию асинаптических аутосомных участков с X-хромосомой. Эти результаты подтверждают видовой уровень отличий формы *wagneri* по отношению к *M. spicilegus*.

К сожалению, у нас нет сведений по гибридизации этих таксонов, но, примерно, оценка гибридов F_1 , где самец *M. m. musculus* из г. Ишима, Тюмень и самка *wagneri*, из Астраханской обл., оказалось похожей. Так, по особенностям кариотипа, диакинезу и профазе СК гибрид F_1 был сходен с таковым от скрещивания самца формы *wagneri* из Астраханской обл. и самки *M. spicilegus* из Ростовской обл., что указывает на их видовую принадлежность (Мальцев и др., 2015).



Характеризация методом оптического захвата стабильности нуклеосом, реконструированных с использованием 601 и 603 высокоафинных последовательностей Видома

Д.А. Янчик¹, В.А. Винник², И.Д. Гончаров², А.А. Алексеев², М.М. Кутузов³, М.А. Ходорковский²,
О.И. Лаврик³

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

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

³ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

ianchik.daria@gmail.com

Нуклеосома является структурной единицей хроматина и состоит из 145–147 пар оснований ДНК, обвитых вокруг гистонового кодра. В ходе процессов клеточной жизнедеятельности, таких как репарация ДНК, репликация и транскрипция, нуклеосома подвергается взаимодействию со стороны различных медиаторных белков, что позволяет обеспечить доступ к ДНК в составе хроматина. Одним из подходов для изучения свойств и динамики нуклеосом является реконструирование нуклеосомных частиц на молекулах ДНК, содержащих позиционирующие нуклеосому последовательности. В данной работе было проведено реконструирование нуклеосом на двух различных ДНК-конструкциях, содержащих нуклеосом-позиционирующие последовательности Видома 601 и 603, и получены данные об их стабильности при механическом воздействии.

Используемый в работе метод оптического захвата позволяет прикладывать к одиночным молекулам ДНК и ДНК-белковым комплексам силы натяжения в диапазоне от долей до десятков пико-ньютонов и одновременно регистрировать их длину. В ходе механического растяжения реконструированных нуклеосомных частиц были определены значения силы натяжения, при которых наблюдалась размотка внутреннего витка нуклеосомы, сопровождающаяся скачкообразным увеличением регистрируемой длины удерживаемого ДНК-белкового комплекса на величину порядка 20 нм. В ходе растяжения нуклеосомных частиц, содержащих 601 последовательность Видома, размотка внутреннего витка нуклеосомы наблюдалась при прикладываемой силе натяжения 30.0 ± 7.9 пН ($N = 29$), а в случае нуклеосом с 603 последовательностью при 23.7 ± 7.7 пН ($N = 32$).

Полученные результаты и экспериментальные наработки могут быть использованы для проведения дальнейших исследований, направленных на изучение взаимодействия хроматин-ремоделирующих белков с нуклеосомными частицами.

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ (соглашения № 075-15-2023-380 и № FSEG-2023–0014).

Симпозиум 12: **Генетика надорганизменных систем**
Symposium 12: **Genetics of Supraorganismal Systems**



Методика выращивания гороха посевного (*Pisum sativum* L.) в стерильных условиях

Г.А. Ахтемова¹, А.С. Сулима¹, А.И. Жернаков¹, И.Ю. Журавлев², В.А. Жуков^{1, 2}

¹ ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург-Пушкин, Россия

² Научно-технологический университет «Сириус», Россия, Краснодарский край, Сочи

gakhtemova@arriam.ru

Горох посевной (*Pisum sativum* L.) является важной сельскохозяйственной культурой и модельным объектом для изучения многих биологических процессов, в том числе уникальной способности бобовых растений вступать в три типа симбиотических отношений с микроорганизмами: арбускулярно-микоризный симбиоз, бобово-ризобийный симбиоз и симбиоз с рост-стимулирующими ризосферными бактериями. Исследования, связанные с изучением данных симбиотических систем, могут включать в себя работы, требующие выращивания растений в стерильных условиях на протяжении продолжительного времени, что, в свою очередь, вызывает техническую проблему создания для растения микроклимата, максимально приближенного к естественному при сохранении стерильности. К таким работам относятся, например, визуализация меченых бактерий в интактных тканях растений, визуальный анализ корневой системы трансгенных растений без повреждения, получение клубеньков в стерильной системе.

Использование стерильных пластиковых боксов Microsac SacO2 (Microbox Container, Бельгия), с фильтрами из микроволокна, которые задерживают микроорганизмы, при этом не нарушая газообмен, позволило отработать методику трансфекции корней гороха сорта Триумф в системе *Agrobacterium rhizogenes* и последующую инокуляцию трансгенных корней штаммом клубеньковых бактерий *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* RCAM1026.

Растения гороха выращивали в стерильных боксах объемом 750 мл (плоские прямоугольные боксы, или микробоксы), прошедших предварительную стерилизацию в автоклаве (1 атм., 30 мин.). В микробоксы заливали 150 мл среды Jensen (pH = 7) [1] с добавлением микроэлементов (1мл/1л). На поверхность застывшей среды раскладывали поверхностно простерилизованные серной кислотой семена гороха посевного. Далее микробоксы закрывали, часть, где росли корни растений, заворачивали в фольгу и помещали в почти вертикальном положении в климатическую камеру MLR-352H-PE (PHCbi, Япония), где поддерживались контролируемые условия (режим день/ночь 16/8 часов, температура 21 градус Цельсия). По мере формирования корневой системы растения заражали штаммом агробактерий по методике, описанной в [2], и отслеживали формирование трансгенных корней, которые светились зеленым цветом при освещении ультрафиолетом (благодаря наличию маркерного гена *GFP*), удаляя при этом нетрансгенные боковые корни. По прошествии 10 дней корневую систему инокулировали клубеньковыми бактериями. Через 2 недели на корнях растений гороха образовывались первые визуально различимые клубеньки, через 3 недели образовывались розовые клубеньки нормального размера и формы.

[1] Jones, K. M. et al. J. Vis. Exp., 2013.

[2] Bonaldi K., et al. МРМІ v. 23, No. 12, 2010

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2022-320 от 20.04.2022 г. о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития научного центра мирового уровня «Агротехнологии будущего».



Характеристика первичного метаболома азотфиксирующих клубеньков растений сорта Triumph и его родительских сортов Classic и Vendevil

Н.О. Ерофеева¹, Т.Е. Билова^{1,2}, А.А. Орлова², С.А. Силинская², Н.В. Фролова², А.В. Соболева²,
О.Ю. Штарк³, В.А. Жуков³, А.А. Фролов²

¹ Санкт-Петербургский Государственный Университет, Кафедра Физиологии и Биохимии Растений,
Санкт-Петербург, Россия

² Институт Физиологии Растений им. К.А. Тимирязева Российской Академии Наук, Лаборатория Аналитической
Биохимии и Биотехнологии, Москва, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский
институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург, Россия
n.erofeeva2001@bk.ru

Горох посевной (*Pisum sativum*) является важной культурой в адаптивном сельском хозяйстве. В связи с этим исследование молекулярных процессов, позволяющих оценить эффективность симбиоза гороха с микроорганизмами, раскрывает возможности для повышения его устойчивости и продуктивности, что важно для совершенствования селекционных программ, ориентированных на адаптацию к меняющимся условиям окружающей среды [1]. В настоящее время проводится разработка новых сортов, приспособленных к неблагоприятным климатическим условиям, что способствует повышению урожайности при сохранении качества и расширению площадей выращивания. Одним из таких сортов является сорт Triumph, созданный в результате скрещивания родительских сортов Classic и Vendevil, сочетающий в себе высокую отзывчивость на инокуляцию полезными микроорганизмами, подходящий габитус и высокую урожайность [2].

В рамках данного исследования был выполнен метаболомный анализ клубеньков, полученных в результате инокуляции растений сортов Triumph, Classic и Vendevil клубеньковыми бактериями (ризобиями, Rh) и совместной инокуляции ризобиями и арбускулярно-микоризными грибами (Rh+AM). Были проанализированы клубеньки растений сорта Triumph, а также его родительских сортов Classic и Vendevil. Использование интегрированного подхода, включающего газовую хроматографию-масс-спектрометрию (ГХ-МС) и ион-парную обращенно-фазовую ультравысокоэффективную жидкостную хроматографию с тандемной масс-спектрометрией (УВЭЖХ-МС/МС), позволило детально проанализировать состав первичных термостабильных и термолабильных метаболитов и выявить 183 и 104 метаболита, соответственно. Были сравнены паттерны метаболитов клубеньков сортов гороха, инокулированных Rh и Rh+AM, и определены статистически значимые различия между ними. Сорт Triumph демонстрирует выраженное сходство метаболических процессов с сортом Classic и отличается от сорта Vendevil. Выделены потенциальные биомаркеры, на основе которых можно оценить эффективность симбиотических отношений, которые в дальнейшем могут использоваться для селекции.

- [1] Штарк, О. Ю., Борисов, А. Ю., Жуков, В. А., Неманкин, Т. А., & Тихонович, И. А. (2011). Многокомпонентный симбиоз бобовых с полезными почвенными микроорганизмами: генетическое и эволюционное обоснование использования в адаптивном растениеводстве. *Экологическая генетика*, 9 (2), 80–94.
- [2] Zorin, E. A., Sulima, A. S., Zhernakov, A. I., Kuzmina, D. O., Rakova, V. A., Kliukova, M. S., Romanyuk, D. A., Kulaeva, O. A., Akhtemova, G. A., Shtark, O. Y., Tikhonovich, I. A., & Zhukov, V. A. (2024). Genomic and Transcriptomic Analysis of Pea (*Pisum sativum* L.) Breeding Line 'Triumph' with High Symbiotic Responsivity. *Plants*, 13(1), 78.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 22-16-00109 с использованием оборудования ресурсных центров СПбГУ («Развитие молекулярных и клеточных технологий», «Криогенный отдел», «Методы анализа состава вещества»).



Филогенетическое положение штаммов *Rhizobium laguerreae* AMPS в пределах комплекса видов *Rhizobium leguminosarum*

Е.А. Киричек¹, А.В. Цыганова¹, В.Е. Цыганов¹

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

e.kirichек@arriam.ru

Rhizobium laguerreae считается перспективным кандидатом для биоудобрения гороха во всем мире за счет высокой эффективности в симбиозе с Бобовыми. Шесть штаммов *R. laguerreae* AMPS были выделены из клубеньков гороха посевного (*Pisum sativum* L.) на территории Альдеа-де-Сан-Мигель (Вальядолид, Испания) и классифицированы с использованием анализа MALDI-TOF. Ранее для этих штаммов была показана высокая эффективность в симбиозе с горохом [1]. В данном исследовании установлено, что только один из шести штаммов, AMPS05, формировал крупные розовые клубеньки с типичной гистологической и ультраструктурной организацией на растениях гороха различных генотипов.

Было проведено ONT секвенирование и сборка геномов шести штаммов *R. laguerreae* (AMPS04, AMPS05, AMPS17, AMPS22, AMPS23, AMPS34), полнота полученных сборок составила от 93.5% до 97.5%. Функциональная аннотация проводилась с использованием RAST 2.0 Server для получения краткого обзора содержимого геномов и метаболической реконструкции.

В результате реконструкции метаболических путей было установлено, что штамм AMPS05 несет 5 генов, не представленных в геномах остальных проанализированных штаммов. Выявленные гены включают: ген аминотрансферазы, связанной с карбоксилазой мочевины (EC 2.1.2.10); ген субъединицы R дезоксирибонуклеазы системы рестрикции-модификации типа I (EC 3.1.21.3); ген двухкомпонентной сенсорной киназы VirA. В то же время аннотация штамма AMPS05 не содержала гена субъединицы F Na⁺/H⁺ антипортера, в отличие от аннотаций других штаммов.

Филогенетический анализ по данным полногеномного секвенирования показал, что наиболее близкими к типовому штамму вида *R. laguerreae* являются штаммы AMPS17, AMPS04 и AMPS23 (относятся к геновиду gsR). В свою очередь, средняя идентичность нуклеотидных последовательностей (ANI) и средняя идентичность нуклеотидных последовательностей ортологов (OrthoANI) для штаммов AMPS22, AMPS34 и AMPS05 составляют менее 96% к типовому штамму. Полученные результаты свидетельствуют о том, что указанные штаммы относятся к другим геновидам в пределах комплекса видов *Rhizobium leguminosarum* (Rlc): AMPS22 — к геновиду gsN, а AMPS34 и AMPS05 — к геновиду gsO; и, следовательно, не могут быть отнесены к *Rhizobium laguerreae sensu stricto* (геновид gsR).

Flores-Félix J. D. et al., Plants, 2020. 9(12): 1755.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 23-16-00090.



Анализ способности штамма ТОМ *Rhizobium leguminosarum* к образованию клубеньков в полевых условиях с использованием тест-системы на основе последовательности гена *nodX*

М. С. Ключкова¹, Е. А. Алексеева², В. А. Ракова², А. И. Жернаков¹, А. С. Сулима¹, И. А. Тихонович^{1, 2, 3},
В. А. Жуков^{1, 2}

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии (ФГБНУ ВНИИСХМ), Санкт-Петербург

² Университет «Сириус», Сириус

³ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

marina.kliukova@gmail.com

Горох посевной (*Pisum sativum* L.) и почвенные бактерии (ризобии), относящиеся к *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* (*Rlv*), способны вступать в симбиотические отношения. В результате на корнях растения формируются новые структуры — клубеньки, в которых происходит процесс азотфиксации, причем эффективность азотфиксации зависит от конкретного штамма ризобий, находящегося в клубеньке. Поэтому для управления показателями азотфиксации необходимо ограничить спектр ризобияльных партнеров *P. sativum* путем настройки симбиотических генов микро- и макросимбионта, участвующих в процессе распознавания друг друга, на взаимодействие с «высокоэффективным» штаммом.

Специфичность взаимодействия гороха с ризобиями контролируется со стороны растения геном *Sym2*, для которого известны «афганская» аллель *Sym2^A* (описана у диких разновидностей гороха из Афганистана), придающая растениям узкую специфичность по отношению к штаммам ризобий, и «европейские» аллели *Sym2^E* (свойственные современным культурным сортам), определяющие широкую специфичность взаимодействия с ризобиями. В свою очередь, штаммы ризобий, имеющие в геноме ген *nodX*, способны взаимодействовать с растениями гороха как с *Sym2^A*, так и с *Sym2^E*, а штаммы, не имеющие гена *nodX*, взаимодействуют только с растениями с аллелью *Sym2^E*, но не *Sym2^A*.

Интрогрессионная линия гороха А33.18 несет «афганскую» аллель гена *Sym2A* в геномном окружении европейского сорта гороха Rondo. Растения линии А33.18 и исходного сорта Rondo были выращены в полевом эксперименте в вариантах «контроль» и «инокуляция штаммом ТОМ (*nodX⁺*)» в трёх повторностях. На корнях растений образовались клубеньки, причём инокуляция штаммом ТОМ увеличила количество клубеньков, образованных на корнях А33.18, но не оказала влияния на этот параметр у Rondo. С растений были собраны клубеньки (20 клубеньков с каждой из трёх повторностей), из каждого клубенька была выделена ДНК и поставлена ПЦР с праймерами к гену *nodX*. В случае успешной амплификации фрагмента проводился рестрикционный анализ при помощи эндонуклеазы рестрикции *RsaI*, позволяющий отличать последовательность *nodX*, принадлежащего штамму ТОМ, от последовательности *nodX* других штаммов благодаря наличию уникального варианта в сайте однонуклеотидного полиморфизма.

В результате было установлено, что все клубеньки линии А33.18 были сформированы ризобиями, несущими ген *nodX*, при этом в варианте «инокуляция ТОМ» во всех образцах был идентифицирован штамм ТОМ. В варианте «контроль» у линии Rondo 100% клубеньков образованы ризобиями, не несущими *nodX*, при этом в варианте «инокуляция ТОМ» у Rondo в 5 образцах из 20 присутствует штамм ТОМ. Однако уровень амплификации продукта был значительно ниже, чем у линии А33.18 при сопоставимом уровне амплификации контрольного гена *nodE*. Это может свидетельствовать о том, что в данных образцах, помимо штамма ТОМ, присутствуют и другие ризобии, не несущие гена *nodX*. Таким образом, наличие аллели *Sym2^A* у линии А33.18 обеспечивает «защиту» растений от аборигенных штаммов и гарантирует образование клубеньков именно тем штаммом ризобий, который был использован для инокуляции.

Работа поддержана грантом РФФИ 22-16-00109.



Микробиом пахотных, залежных и природных дерново-подзолистых краснопрофильных почв Ленинградской области

Т.И. Низамутдинов¹, А.К. Кимеклис^{1,2}, Г.В. Гладков^{1,2}, Е.В. Андронов², Е.В. Абакумов^{1,2},
В.И. Поляков¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

² Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург
timur_nizam@mail.ru

Микробиом агропочв Северо-Запада и России в целом изучен достаточно слабо. Данные о таксономическом составе микробиома очень сильно кластеризованы. Большая часть сведений получена для центральной части ЕТР, а для Западной и Восточной Сибири данные о микробиоме почв являются единичными. Цель данного исследования — изучение таксономического и функционального состава микробиома старопахотных, залежных, а также природных фоновых почв. В настоящем исследовании были изучены почвы агроэкосистем Ленинградского НИИСХ «Белогорка», исследованные дерново-подзолистые почвы относятся к роду краснопрофильных, поскольку формируются на локальных красноцветных ледниковых моренах. Из образцов почвы была выделена ДНК и проведена подготовка ампликонных библиотек гена 16S рРНК для секвенирования на платформе Illumina MiSeq. Были оценены параметры альфа- и бета-разнообразия почвенного микробиома.

Общий таксономический профиль микробиома исследуемых почв характеризуется доминированием фил *Acidobacteriota*, *Verrucromicrobiota*, *Pseudomonadota* и *Bacteroidota*. В меньшей степени представлены *Proteobacteria*, *Chloroflexota*, *Actinobacteriota*. Во всех пробах почв широко представлены неидентифицированные и/или некультивируемые микроорганизмы. Таксономический состав агрогенных (залежь и действующее поле) почв схож по наиболее представленными филотипам, но значительно отличается на уровне минорной компоненты сообщества. Филотипы родов *Flavobacterium*, *Ferruginobacter* и некоторых других характерны скорее для пахотной почвы, для залежной характерны неидентифицированные представители филотипов *Acidoaterica*, *Gemmatimonodota*, *Chloroflexota*. В фоновой почве под ельником почти полностью отсутствуют представители *Gemmatimonadota* и *Thermodesulfobacteriota*, а также резко снижена представленность *Mухосoccota*. Основные факторы, способствующие разделению параметров бета-разнообразия микробиома почв для изученных вариантов землепользования — это повышенное содержание фосфора, калия и нитратной формы азота в агрогенных почвах и высокое содержание аммонийного азота в лесной почве.

В заключении можно сказать, что в северо-западном регионе почвы двадцатилетней залежи сохраняют признаки микробиома действующего поля, сильно отличаясь от микробиома фоновой лесной почвы на низком таксономическом уровне. Таким образом, признаки агропедогенеза в почвенном микробиоме являются устойчивыми и достаточно консервативными, что свидетельствует о смене онтогенетической фазы агрогенной эволюции почв в условиях длительного использования их в сельском хозяйстве.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 23-16-20003 соглашение от 20.04.2023 и СПбНФ № 23-16-20003 соглашение от 05.05.2023.



Генетический контроль бактериальной системы секреции VI типа у штаммов *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*

О.А. Павлова¹, А.А. Шалякина¹, Е.А. Долгих¹

¹ ФГБНУ ВНИИСХМ, лаборатория сигнальной регуляции, Санкт-Петербург
dobbi85@list.ru

Сигнальный обмен между бобовыми растениями и бактериями порядка *Rhizobiales* имеет решающее значение в установлении эффективного бобово-ризобияльного симбиоза. Помимо хорошо изученных сигнальных молекул, таких как Nod-факторы и флавоноиды, недавние исследования показали, что важную роль в контроле развития симбиоза могут играть эффекторы ризобий, секретируемые посредством III, IV и VI типа секреции [1]. У *R. leguminosarum* bv. *viciae* не функционируют системы секреции III и IV типа, однако анализ мутантных штаммов этих бактерий, формирующих неэффективные клубеньки, показал возможное участие в развитии симбиоза систем секреции VI типа (T6SS) [2]. Имеющиеся данные об участии эффекторов ризобий в симбиозе всё ещё неполные и требуют дополнительных исследований.

В ходе работы проведен анализ геномов высоко- (3841, K9) и низковирулентных (K19, 1026) эффективных штаммов *R. leguminosarum* bv. *viciae*. Было показано, что у штаммов, формирующих неэффективные клубеньки (Vst36-3, K3), отсутствуют компоненты T6SS, что свидетельствует о важности этой системы для развития симбиоза. У эффективных штаммов найдены гены, кодирующие предполагаемые белки-эффекторы, содержащие домены DUF2169 и DUF4150. Вместе с тем, у штаммов, характеризующихся образованием повышенного количества клубеньков (3841, K9), найден ген *duf310*, кодирующий уникальный белок-эффектор. Нами был осуществлен гетерологичный синтез эффекторов DUF2169 и DUF310 в бактериях *Escherichia coli* с использованием вектора pRSETa для синтеза белков с 6xHIS и FLAG метками, что позволило провести анализ их взаимодействия с помощью ко-иммунопреципитации. Были получены штаммы *R. leguminosarum* bv. *viciae* 1026, несущие дополнительные копии генов *duf2169* или *duf310* в геноме под *lac*-промотором. Штаммы были использованы для инокуляции гороха посевного сорта Frisson, что позволило изучить роль данных эффекторов в контроле эффективности симбиоза.

Среди возможных мишеней эффекторов — рецепторные киназы, содержащие сайт связывания нуклеотидов и лейцин богатые повторы (TIR-NBS-LRR или NLR). При анализе протеома инокулированных ризобиями корней гороха, было обнаружено подавление синтеза белка KR1, относящегося к семейству NLR. Для оценки влияния KR1 на симбиоз, были получены растения гороха с эктопической экспрессией этого гена под промотором p35S. Проводится анализ связывающей способности NLR-рецептора KR1 и потенциальных эффекторов DUF2169, DUF4150 и DUF310.

[1] De Sousa B. F. S., Castellane T. C. L., Tighilt L., de Macedo Lemos E. G., Rey L. Rhizobial Exopolysaccharides and Type VI Secretion Systems: A Promising Way to Improve Nitrogen Acquisition by Legumes, *Front. Agron*, vol. 3, no. 1 Jul. 05, 2021

[2] Bladergroen M. R., Badelt K., Spaink H. P. Infection-Blocking Genes of a Symbiotic *Rhizobium leguminosarum* Strain That Are Involved in Temperature-Dependent Protein Secretion, vol. 16, no. 1, pp. 53–64, Jan. 2003

Работа поддержана грантом НЦМУ № 075-15-2022-320.



Геномный и транскриптомный анализ признака симбиотической отзывчивости у гороха посевного (*Pisum sativum* L.)

В.А. Ракова¹, Е.А. Зорин², А.С. Сулима², А.И. Жернаков², Д.А. Кузьмина², М.С. Клюкова²,
Д.А. Романюк², О.А. Кулаева², О.Ю. Штарк², Г.А. Ахтемова², И.А. Тихонович^{1,2}, В.А. Жуков^{1,2}

¹ Университет «Сириус», Сириус, Россия

² ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Россия

valeriesnow@mail.ru

Растения из семейства Бобовые (*Fabaceae*) способны формировать два типа взаимовыгодных симбиозов — с клубеньковыми бактериями (ризобиями) и с арбускулярно-микоризными грибами отряда *Glomeromycota*. Такие симбиозы полезны как для растений-хозяев, так и для микросимбионтов, а также для окружающей среды, улучшая минеральное питание растений, увеличивая урожайность, повышая устойчивость к стрессам разного типа и улучшая структуру и плодородие почвы.

Горох посевной (*Pisum sativum* L.) успешно взаимодействует как с клубеньковыми бактериями, так и с грибами арбускулярной микоризы. Симбиотическая отзывчивость гороха на инокуляцию определяется как прибавка семенной продуктивности под воздействием инокуляции по отношению к неинокулированному контролю. Существуют сорта гороха с высокой и низкой симбиотической отзывчивостью. Сорт «Триумф» с высокой симбиотической отзывчивостью получен в результате скрещивания сортов «Вендевилль» (высокоотзывчивый) и «Классик» (низкоотзывчивый).

В исследовании проведено сравнение геномов сортов «Триумф», «Вендевилль» и «Классик». Установлено, что «Триумф» унаследовал более 20% генома от «Вендевиля», включая гены, связанные с образованием арбускулярной микоризы и азотфиксирующих клубеньков. Также проведено сравнение транскриптомных профилей растений, выращенных в контрольных условиях и в различных вариантах инокуляции клубеньковыми бактериями и грибами арбускулярной микоризы. Выявлена сходная регуляция экспрессии генов, аллельное состояние которых «Триумфа» унаследовал от «Вендевиля», связанных с биосинтезом и регуляцией гормонов (ауксина и гиббереллиновой кислоты), и биосинтезом флавоноидов в корнях гороха. Было обнаружено, что уровень регуляции нескольких генов, включая гены, кодирующие леггемоглобин и лектины, был снижен у «Триумфа» и «Вендевиля» по сравнению с «Классик», что может указывать на важную роль гормонов растения в эффективности симбиоза с бактериями и грибами. Также был идентифицирован ген-кандидат *PsGLP2*, паттерн экспрессии которого схож у «Триумфа» и «Вендевиля» и отличается от «Классика», что коррелирует с различиями в последовательности его промоторной области. Данный результат открывает возможности для будущих исследований по оценке потенциала *PsGLP2* в качестве маркера признака симбиотической отзывчивости.

Исследование поддержано грантом РФФ № 22-16-00109.



Исследование генов *TOO MUCH LOVE* в развитии клубеньков у люцерны

Д.Н. Рубцова¹, М.А. Лебедева¹, Л.А. Лутова¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет

daria.rubtsova2016@yandex.ru

Бобовые растения способны вступать в симбиоз с почвенными бактериями-ризобиями, в результате чего на корнях бобовых растений формируются новые органы — симбиотические клубеньки, в которых происходит процесс азотфиксации. Формирование азотфиксирующих клубеньков находится под контролем со стороны растения. Ключевую роль в этом процессе играют мобильные регуляторные пептиды CLE, образующиеся в корнях, и их рецепторы — CLV1-подобные киназы, работающие в побеге. Связывание пептидов CLE с их рецепторами приводит к выработке ответного сигнала, подавляющего развитие симбиотических клубеньков на корнях с участием регуляторных молекул, транспортирующихся из побега в корень. У люцерны *Medicago truncatula* в ответ на активацию рецепторов CLE происходит увеличение содержания транскриптов генов *MtTML1* и *MtTML2* (*TOO MUCH LOVE 1* и *2*) в корнях, что приводит к подавлению развития симбиотических клубеньков. Мутация в гене *TML* у люцерны японского приводит к избыточному клубенькообразованию. Предполагается, что белок TML, компонент убиквитин-лигазного комплекса, может быть вовлечён в подавление клубенькообразования за счёт убиквитин-зависимой деградации белков — ключевых регуляторов развития симбиоза (Takahara et al., 2013). Однако конкретные мишени TML и механизмы его действия остаются неизученными. Для исследования роли генов *TML* в контроле развития клубеньков у люцерны нами были созданы конструкции для получения нокаутов по генам *MtTML1* и *MtTML2* с помощью CRISPR-Cas9-опосредованного геномного редактирования. К настоящему времени в результате агробактериальной трансформации с помощью созданных конструкций нами получены растения-регенеранты, анализ ДНК которых позволил выявить события редактирования в изучаемых генах. Кроме того, нами были созданы конструкции для сверхэкспрессии этих генов *MtTML* под контролем конститутивного промотора CaMV 35S. Исследование растений с измененной активностью генов *TML* люцерны позволит выяснить механизмы действия этих регуляторов в развитии клубеньков.

Симпозиум 13: **Направленное изменение генетической информации**
Symposium 13: **Directed Change of Genetic Information**



Arabidopsis thaliana dGAG gene silencing leads to severe plant morphological abnormalities

A.V. Polkhovskiy^{1, 2, 3}, I.V. Kirov^{1, 2}, A.S. Abramova^{1, 2}

¹ MIPT, Moscow

² ARRIAB, Moscow

³ Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow

polkhovsky.a.w@gmail.com

LTR retrotransposons (LTR-RTs) are mobile elements that occupy a significant portion of the genome in most plant species. The LTR-RT life cycle is very similar to that of retroviruses and involves the assembly of a virus-like particle from GAG proteins [1], which interact and encapsulate LTR-RT RNA which further leads to its' transposition in genome. During evolution transposon genes may be subjected to domestication process, thus obtaining new valuable functions for host organism. Recently, a new domesticated retroviral GAG gene AT4G00980 (dGAG) was found in the genome of *Arabidopsis thaliana*.

Virus-induced gene silencing of dGAG caused apparent changes in plant morphology, namely, loss of apical dominance, early flowering, development of dwarf curved leaves with jagged edges, underdeveloped and curved siliques.

We used GeneMANIA prediction server [2] in order to find possible target proteins with which dGAG may cooperate. 6 proteins were predicted to interact with dGAG-AT1G10590, AT5G09240, AT5G08410, AT4G10920, AT5G09250, AT1G55460. Their possible interaction was also confirmed by the Pipeline for the Extraction of Predicted Protein-protein Interactions (PEPPI) [3]. GO enrichment analysis showed that most of these proteins are DNA-binding proteins and transcription activators, mostly influencing on plant development, growth and flowering regulation, as well as oxidation stress and pathogen response. This set of genes including dGAG was further used in order to analyze their transcription changes via RT-qPCR in response to separate dGAG silencing, phytoene desaturase (PDS) silencing and tobacco rattle virus (TRV) infection.

- [1] Kirov, I.; Merkulov, P.; Polkhovskaya, E.; Konstantinov, Z.; Kazancev, M.; Saenko, K.; Polkhovskiy, A.; Dudnikov, M.; Garibyan, T.; Demurin, Y.; et al. Epigenetic Stress and Long-Read cDNA Sequencing of Sunflower (*Helianthus annuus* L.) Revealed the Origin of the Plant Retrotranscriptome. *Plants* 2022, 11, 3579. <https://doi.org/10.3390/plants11243579>.
- [2] Warde-Farley D., Donaldson S. L., Comes O., Zuberi K., Badrawi R., Chao P., Franz M., Grouios C., Kazi F., Lopes C. T., Maitland A., Mostafavi S., Montojo J., Shao Q., Wright G., Bader G. D., Morris Q. The GeneMANIA prediction server: biological network integration for gene prioritization and predicting gene function. *Nucleic Acids Res.* 2010 Jul;38(Web Server issue): W214–20. doi: 10.1093/nar/gkq537. PMID: 20576703; PMCID: PMC2896186.
- [3] Eric W. Bell, Jacob H. Schwartz, Peter L. Freddolino, Yang Zhang. PEPPI: Whole-proteome Protein-protein Interaction Prediction through Structure and Sequence Similarity, Functional Association, and Machine Learning. *Journal of Molecular Biology*, Volume 434, Issue 11, 2022, 167530, ISSN 0022–2836, <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2022.167530>.



Моделирование неонатальной эпилепсии человека на мышах с нокаутом гена *kcna1*

И.И. Ахмаров¹, О.А. Кириллов¹, А.В. Чиринскайте¹, Ю.В. Сопова¹, Е.И. Леонова¹

¹ Центр трансгеноза и редактирования генома СПбГУ, Санкт-Петербург

luv7411@yandex.ru

Эпилепсия — это одно из наиболее распространенных неврологических заболеваний, характеризующееся повторяющимися судорожными приступами. Болезнь чаще всего имеет наследственный характер, и первые приступы фиксируются в возрасте до 18 лет. Однако понимание патогенеза и физиологических изменений, возникающих при эпилепсии, на сегодняшний момент недостаточно [1]. В связи с этим возникает необходимость моделирования заболевания на животных, чтобы более глубоко понять механизмы развития, проявления и лечения эпилепсии.

В качестве мишени в нашем исследовании был выбран ген *kcna1(k_v1.1)* мыши, кодирующий субъединицу потенциал-зависимого калиевого канала подсемейства А. Мутации в этом гене у человека приводят к развитию неонатальной эпилепсии, а также эпизодической атаксии первого типа [2].

Подбор последовательности направляющей РНК для нуклеазы Cas9 осуществлялся с учетом оптимального расположения двунитевого разрыва в конце рамки считывания для уменьшения вероятности возникновения летальных мутаций. Подготовленная конструкция, состоящая из направляющей РНК и мРНК Cas9, была введена в зиготу методом микроинъекций, после чего зиготы были подсажены псевдобеременным мышам. Через три недели было получено первое поколение мышей с делециями в гене *kcna1*. Мы смогли наблюдать у них спонтанные эпилептические приступы в раннем возрасте (1–2 недели). К сожалению, все полученные животные скончались до достижения половозрелого возраста (между 2 и 5 недель).

Таким образом, мыши с делецией в гене *kcna1* проявляют выраженные спонтанные эпилептические приступы, наблюдаемые с раннего возраста. Однако для получения устойчивой линии требуются дополнительные исследования, направленные на повышение выживаемости особей и сохранение фенотипа.

[1] Kumar S. et al. Epigenetics in epilepsy. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2023;198:249–269.

[2] Paulhus K. et al. Clinical spectrum of KCNA1 mutations: new insights into episodic ataxia and epilepsy comorbidity. *Int J Mol Sci.* 2020; 21(8):2802.

Работа выполнена при поддержке гранта СПбГУ ID 95445540.



Роль факторов транскрипции семейства GATA в регуляции метаболизма одноклеточной зелёной водоросли *Chlamydomonas reinhardtii*

П. А. Виrolайнен¹, Е. М. Чекунова¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург
st085618@student.spbu.ru

Одноклеточная зелёная водоросль *Chlamydomonas reinhardtii* (хламидомонада) — популярный модельный организм для изучения генетики фотосинтеза, биологии хлоропласта, структуры и функций сенсорных фоторецепторов и фотоповедения. Короткий жизненный цикл, простота культивирования и хорошо разработанные методы генетического анализа и геной инженерии, а также безопасность для человека делают хламидомонаду идеальным объектом для изучения проблем генетики фотосинтеза и перспективной платформой для наработки рекомбинантных белков, востребованных в фармацевтике и медицине. Одним из наиболее важных процессов, вовлечённых в клеточный ответ на внешние и внутренние стимулы, является регуляция экспрессии генов — в основном она осуществляется факторами транскрипции (ФТ). К ФТ, ответственным за регуляцию светозависимых генов у грибов и фотосинтезирующих эукариот, относятся транскрипционные факторы семейства GATA. ФТ GATA — эволюционно консервативные белки, которые содержат характерный ДНК-связывающий цинк-пальцевый домен и распознают консенсусную последовательность (A/T)GATA(A/G) целевых промоторных областей. Цинк-пальцевый домен факторов GATA состоит из специфически организованной аминокислотной последовательности, включающей цистеин (CX₂CX₁₇₋₂₀CX₂C), которая во вторичной структуре белка образует последовательно расположенные два антипараллельных β-листа и одну α-спираль. Хотя семейство генов GATA было идентифицировано у животных, растений и грибов, на сегодняшний день функционально охарактеризована лишь их малая часть у ограниченного числа видов.

В последние годы ФТ GATA активно изучают у наземных (сосудистых) растений и грибов, но они остаются практически не исследованными у несосудистых растений, в том числе микроводорослей. Наша работа посвящена изучению структуры и функций ФТ семейства GATA у зелёной водоросли *C. reinhardtii* с применением методики CRISPR/Cas редактирования.

В геноме хламидомонады методами *in silico* нами было обнаружено 12 генов, кодирующих ФТ семейства GATA. Биоинформатический анализ белков позволил предсказать их участие в регуляции следующих клеточных процессов метаболизма хламидомонады: 1) фотосинтез, циркадные ритмы и метаболизм фосфора; 2) метаболизм углерода; 3) метаболизм азота, ремоделирование хроматина и стимулирование анафазы. Филогенетический и структурный анализ аминокислотных последовательностей ДНК-связывающих цинк-пальцевых доменов позволил идентифицировать три класса факторов GATA у *C. reinhardtii*, представители каждого из которых имеют свои характерные аминокислотные мотивы. В настоящее время ведётся апробация метода CRISPR/Cas для двух штаммов *C. reinhardtii*: 137C (*wt*) и CC-3395 (*cwd, arg7-8*) из Петергофской генетической коллекции — с целью нокаута генов интереса, кодирующих ФТ семейства GATA, для изучения их функций *in vivo*.

Работа выполнена при поддержке гранта СПбГУ (ID Pure 115624290).



CRISPR-Cas нокаут гена *LEAFY* для получения стерильных клонов у осины

Д.С. Каржаев¹, В.А. Волков¹, В.В. Нестерчук¹, Е.Д. Сафронычева¹, Е.К. Потокина²

¹ ФБУ СПбНИИЛХ

² Сколтех

karzhaevd@gmail.com

Осина — одна из наиболее быстрорастущих древесных пород, что делает ее перспективным объектом для селекции, в том числе, с использованием методов геномного редактирования. Любые эксперименты по генетической модификации деревьев сталкиваются с необходимостью выращивания полученных клонов в открытом грунте, что может привести к переносу модифицированных генов в естественные популяции в результате переопыления. Мы сообщаем о результатах экспериментов по CRISPR-Cas нокауту гена *LEAFY* с целью получения стерильного модельного клона для дальнейших экспериментов по редактированию генома осины. Редактирование проводилось с помощью направляющих РНК, нацеленных на 5'-UTR область и начало первого экзона гена. Синтез РНП производился с использованием вектора pUC57-sgRNA. Доставка РНП в каллусные культуры осины осуществлялась биобаллистическим методом. Из каллусов, подвергнутых обстрелу, в культуре *in vitro* были получены растения-регенеранты, впоследствии введенные в горшечную культуру. С помощью таргетного секвенирования на платформе Illumina MiSeq были выявлены растения с внесенными мутациями, которые в дальнейшем были подтверждены результатами секвенирования по Сэнгеру.



Создание системы для тканеспецифичной экспрессии сенсора напряжения *Positron* у трансгенных мышей

О.А. Кириллов¹, И.И. Ахмаров¹, А.В. Чиринскайте¹, Ю.В. Сопова¹, Е.И. Леонова¹

¹ Центр трансгеноза и редактирования генома СПбГУ, Санкт-Петербург

o-kirillov03@mail.ru

Флуоресцентные генетически кодируемые индикаторы мембранного потенциала позволяют одновременно регистрировать электрическую активность большого количества нейронов с высоким пространственным разрешением и минимальной инвазивностью.

Индикатор *Positron* представляет собой гибридный белок, успешно сочетающий высокую чувствительность микробных родопсинов (*Ace2*) с яркостью и фотостабильностью химических красителей, связывающихся с доменом HaloTag [1]. Лocus *ROSA26*, расположенный на 6 хромосоме, транскрибируется в большинстве тканей мыши, однако синтезируемая РНК далее не транслируется. Этот locus часто используется для направленных вставок в геном, поскольку было показано, что интеграция трансгена в этот locus не приводит к неблагоприятным последствиям и позволяет обеспечить эффективную экспрессию вставки.

Нами были созданы конструкции, позволяющие сделать направленную вставку гена *Positron* в locus *ROSA26*. Для этого в последовательность гена *Voltron* — флуоресцентного индикатора напряжения, были внесены 4 нуклеотидные замены с помощью серии последовательных ПЦР и лигирований. Далее мы провели встройку гена *Positron* в вектор pR26-H2B-EGFP HR и получили вектор pR26-*Positron* HR, содержащий последовательность гена *Positron*, фланкированную фрагментами локуса *ROSA26*. Интеграция этой конструкции в хромосомную копию локуса *ROSA26* по участкам гомологии будет приводить к конститутивной экспрессии гена *Positron* в клетках трансгенной мыши. Также мы встроили ген *Positron* в вектор pR26 CAG/GFP Asc. Этот вектор также содержал последовательность гена *Positron*, фланкированную фрагментами локуса *ROSA26*, однако для экспрессии индикатора в этом случае необходимо удаление неомициновой кассеты, фланкированной сайтами *loxP*. Использование трансгенных мышей, несущих ген рекомбиназы Cre, для скрещивания с мышами, несущими интегрированный в locus *ROSA26* ген *Positron* и стоп-кассету, позволит получить в первом поколении мышей, у которых ген *Positron* экспрессируется только в нейронах головного мозга.

- [1] *Abdelfattah A. S. et al*, A general approach to engineer positive-going eFRET voltage indicators, 2020, Nat Commun. 2020 Jul 10;11(1):3444.



Поиск и редактирование генов-ингибиторов соматического эмбриогенеза у *Medicago truncatula*

З.С. Константинов¹, В.Е. Творогова², Э.А. Поценковская¹, Л.А. Лутова²

¹ НТУ «Сириус», Сочи

² СПбГУ, Санкт-Петербург

zakhar.konstantinov@mail.ru

Успех протоколов генетической трансформации бобовых ограничен их низкой способностью к регенерации. Регенерация растений может происходить как по пути образования побегов и их дальнейшего укоренения, так и по пути соматического эмбриогенеза (СЭ). СЭ — это метод бесполого размножения, возможный благодаря тотипотентности растительных клеток. В ходе СЭ эмбрионы формируются из соматических клеток. СЭ имеет некоторое сходство с зиготическим эмбриогенезом, поскольку эти пути развития вовлекают общих участников в транскрипционный, гормональный и эпигенетический контроли. Как и многие процессы в растительном организме, СЭ регулируется активностью различных генов: стимуляторов или репрессоров. В результате транскрипционного анализа эмбрионных и неэмбрионных каллусов *Medicago truncatula* на разных стадиях развития были обнаружены предполагаемые гены-ингибиторы СЭ. Используя систему Golden Gate, мы создали векторы для сверхэкспрессии генов интереса в эмбрионных каллусах и оценки их влияния на СЭ. Сверхэкспрессия трех генов, кодирующих транскрипционные факторы из семейств WRKY, Homobox-WOX и bZIP, а также одного гена, кодирующего пептид CLE, оказывала значимый ингибирующий эффект на СЭ (снижалось среднее количество соматических эмбрионов на каллус).

Другой ранее обнаруженный ингибитор СЭ, кодирующий пептид из семейства CLE, был отредактирован, и были получены гомозиготные мутанты со сдвигом рамки считывания в этом гене. В результате было выяснено, что потеря функции этого гена приводит к увеличению числа соматических эмбрионов на эксплант.

Это исследование было поддержано проектом научно-технологического университета «Сириус»: PBB-RND-2243.



Восстановление рамки считывания при мутациях в экзонах 11–12 гена дистрофина

Е. В. Куршакова¹, О. А. Левченко¹, И. О. Панчук¹, К. С. Кочергин-Никитский¹, О. В. Володина¹,
С. Э. Нагиева¹, С. А. Смирнихина¹, А. В. Лавров¹

¹ Медико-генетический научный центр имени академика Н. П. Бочкова

kurshakovalv@mail.ru

Мышечная дистрофия Дюшенна — это тяжелое прогрессирующе нервно-мышечное X-сцепленное заболевание, вызываемое мутациями в гене дистрофина (*DMD*). Данным заболеванием страдает 1 из 5000 новорожденных мальчиков. Наиболее часто миодистрофия Дюшенна обусловлена мутациями в экзонах 44–55, и для вариантов заболеваний, вызываемых данными мутациями, проводится большинство работ по восстановлению нарушенной рамки считывания, а также существует одобренная генная терапия. Однако пациенты с патогенными вариантами в других экзонах также нуждаются в лечении. В среднем около 1,5% патогенных вариантов приходится на экзоны 11 и 12. В данной работе поставлена цель разработать методы перманентного пропуска экзонов 11 и 12 путем разрушения сайтов сплайсинга. Пропуск двух этих экзонов одновременно приведет к восстановлению рамки считывания в случае расположения патогенных вариантов внутри данных экзонов, в то время как пропуск каждого экзона по отдельности будет приводить к восстановлению рамки считывания в случае крупных делеций, захватывающих либо экзон 11, либо экзон 12.

Для создания плазмидных конструкций в работе использовали плазмиды pSpCas9(BB)-2A-GFP (PX458) (Addgene plasmid # 48138) и saCas9 — pX601-AAV-CMV:: NLS-SaCas9-NLS-3xHA-bGHpA; U6:: BsaI-sgRNA (Addgene plasmid # 61591), в которые были клонированы соответствующие направляющие РНК (sgRNA), необходимые для разрушения сайтов сплайсинга. Полученные плазмидные векторы были трансфицированы в клеточную культуру НЕК293Т с использованием реагента PEI (полиэтиленимин) с целью отбора наиболее эффективных sgRNA. Эффективность трансфекции оценивали через 48 часов путем подсчета количества флуоресцирующих клеток с помощью цитофлуориметрии (Flowmax, Partec, Германия). Далее из клеток была выделена ДНК, и с помощью ПЦР, с использованием специфичных праймеров, амплифицированы фрагменты региона посадки sgRNA. Ампликоны секвенированы по Сэнгеру, в программе TIDE подсчитан процент небольших делеций и вставок, созданных в результате негомологичного соединения концов после двуцепочечного разреза нуклеазой Cas9.

Были подобраны 4 sgRNA для разрушения сайта сплайсинга экзона 11 и 2 sgRNA для разрушения сайтов сплайсинга экзона 12, собраны все необходимые плазмидные конструкции для SpCas9 и SaCas9. Проведены эксперименты по трансфекции полученных конструкций в культуру клеток НЕК293Т. Наибольшая эффективность редактирования, с учетом эффективности трансфекции, составила 52,6% и 44,7% для направляющих РНК sgspDMD11skip3 и sgspDMD11skip2, соответственно. Плазмидные конструкции, показавшие лучшую эффективность, отобраны для дальнейшей работы с культурами миобластов.

Таким образом, в результате работы была оценена эффективность различных направляющих РНК и выявлены варианты, которые планируется использовать в дальнейшей разработке терапии миодистрофии Дюшенна у пациентов с редкими вариантами мутаций в экзонах 11–12 гена дистрофина.

Исследование выполнено в рамках выполнения гранта РФФ 23-15-00482.



Оценка эффективности редактирования направляющих РНК для разработки метода пропуска экзонов 43–55 в гене *DMD*

О.А. Левченко¹, С.Э. Нагиева¹, И.О. Панчук¹, К.С. Кочергин-Никитский¹, О.В. Володина¹,
Е.В. Куршакова¹, А.В. Лавров¹

¹ Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова, Москва

s.e.nagieva@gmail.com

Мышечная дистрофия Дюшенна (МДД) — наследственное заболевание, причиной которого являются патогенные варианты в гене *DMD*. МДД характеризуется прогрессирующей мышечной слабостью, приводящей к утрате двигательных и дыхательных функций, а также кардиомиопатией. Чаще всего МДД обусловлена делециями и дупликациями с 44 по 55 экзоны гена *DMD*, приводящими к сдвигу рамки считывания. Для восстановления рамки считывания и структуры гена используют метод пропуска экзонов. Основной целью данной работы является разработка метода перманентного пропуска отдельных экзонов из интервала 43–55 в гене *DMD* с помощью сплайсинга с применением системы геномного редактирования CRISPR/Cas9. На данном этапе исследования была проведена оценка эффективности редактирования отобранных направляющих РНК (sgRNA) на соответствующие экзоны.

Были отобраны 27 sgRNA для экзонов 43–55 (22 для SpCas9 и 5 для SaCas9) и клонированы в плазмиды pX458_pSpCas9(BB)-2A-GFP (AddGene 48138) и saCas9 (AddGene 61591). Затем плазмидные конструкции трансфицированы методом PEI-опосредованной трансфекции в культуру клеток HEK293T. Через 48 часов после трансфекции выделяли ДНК и амплифицировали область посадки sgRNA с использованием специфических праймеров, затем ПЦР-продукт секвенировали по Сэнгеру и анализировали эффективность внесения инделов в целевые локусы (эффективность редактирования) с помощью программы TIDE.

В результате работы были отобраны 7 наиболее эффективных направляющих, для которых в трех технических и двух биологических репликах воспроизводимо и достоверно образовывались инделы по данным TIDE. Эффективность редактирования отобранных sgRNA составила от 5% до 22% без учета эффективности трансфекции, и от 7% до 96% с нормализацией эффективности редактирования на эффективность трансфекции.

Таким образом, проведен скрининг 27 sgRNA направленных на разрушение сайтов сплайсинга экзонов 43–55 в клеточных линиях HEK293T. Отобранные sgRNA будут использованы для оценки возможности восстановления рамки считывания гена *DMD* в культурах клеток пациентов с МДД.

Исследование выполнено в рамках выполнения гранта РФФИ 23-15-00482.



Анализ аллельного разнообразия генов яровой пшеницы с помощью технологии ONT Amplicon-Seq

Е. С. Полховская¹

¹ ФГБНУ ВНИИСБ, Москва

ekaterina_enzekrey@mail.ru

Генетическая изменчивость ключевых генов, участвующих в формировании желаемых агрономических признаков, имеет решающее значение для программ селекции растений, включая технологические признаки. Поскольку создание высококачественных сортов — трудоемкая задача, оценку питательной и биологической ценности зерновых культур проводят с помощью ряда критериев. К ним относятся отдельные комплексы запасных белков, содержащихся в зерне, а также различные условия произрастания. Получение улучшенных линий является дорогостоящим и энергозатратным процессом (Semenov et al., 2018). Известно, что различные аллели, кодирующие HMW-GS-белки, и их комбинации по-разному влияют на хлебопекарные качества пшеницы (Payne et al., 1987). В результате растет интерес исследователей к выявлению специфических аллелей и их вариантов, связанных с генами, которые имеют важное значение для качества муки и успеха программ селекции пшеницы.

В данном исследовании Нанопорового секвенирования ампликонов (ONT Amplicon-Seq) было успешно использовано для быстрой идентификации аллельных вариантов шести полноразмерных генов HMW-GS в 23 образцах пшеницы различного происхождения. Всего было идентифицировано 14 аллелей и верифицированы структурные вариации (Polkhovskaya E. et al., 2023). Многие из этих аллелей ранее наблюдались в культивируемых сортах пшеницы и генетических коллекциях: 10 аллелей (Glu-A1x1, Glu-A1x2*, Glu-B1x7 и Glu-B1y8, Glu-B1x13 и Glu-B1y16, Glu-B1x17 и Glu-B1y18, Glu-D1x5 и Glu-D1y10) считаются преимущественными для выпечки и широко используются в селекционных программах по всему миру (Payne et al., 1987, Lukow, et al., 1989).

Наше исследование предоставляет важную информацию для проведения генотипирования как генов, связанных с хлебопекарными качествами, так и для анализа комплекса генов, влияющих на агрономические признаки в целом. Этот метод позволяет использовать для анализа определенные участки ДНК, включая как саму последовательность гена, так и его промоторную область. Это позволяет исследователям выявлять структурные вариации, такие как однонуклеотидные полиморфизмы (SNPs), а также вставки или делеции (InDels). Таким образом, скорость и адаптивность метода ONT Amplicon-Seq позволяет использовать его для одновременного секвенирования целых генов растений с большими и сложными геномами.

- [1] Semenov O. G., Divashur M. G., Shangeshapvako H. G., Plushikov V. G., Hupacaria T. I., Vvedensky V. V. et al. Specificity of combinations of qualitative and quantitative characteristics of glucovine in genotypes of alloctoplasmatic spruce wheat with allele of wild type Wx-b1a. RUDN Journal of Agronomy and Animal Industries. 2018;13(1):14–25.
- [2] Payne P. I., Seekings J. A., Worland A. J., Jarvis M. G., Holt L. M. Allelic variation of glutenin subunits and gliadins and its effect on breadmaking quality in wheat: Analysis of F5 progeny from Chinese Spring × Chinese Spring (Hope 1A). Journal of Cereal Science. 1987;6(2):103–118.
- [3] Polkhovskaya E. et al. Nanopore Amplicon Sequencing Allows Rapid Identification of Glutenin Allelic Variants in a Wheat Collection // Agronomy. — 2023. — Т. 14. — № 1. — С. 13.
- [4] Lukow, O. M.; Payne, P. I.; Tkachuk, R. The HMW Glutenin Subunit Composition of Canadian Wheat Cultivars and Their Association with Bread-making Quality. J. Sci. Food Agric. 1989, 46, 451–460, doi:10.1002/jsfa.2740460407.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (№ GUM-2022–005).



Новый PAM повышает специфичность нуклеазы LbCas12a в условиях *in vitro*

А.В. Чиринскайте¹, А.А. Зелинский², Ю.В. Сопова¹, Е.И. Леонова¹

¹ Центр трансгеноза и редактирования генома, Санкт-Петербургский государственный университет

² Лаборатория биологии амилоидов, Санкт-Петербургский государственный университет

chirinskaitea@yandex.ru

Нуклеаза Cas12a из бактерии *Lachnospiraceae* (LbCas12a) является одной из первых идентифицированных нуклеаз в системах V типа. Нуклеазы семейства Cas12 нашли широкое применение для редактирования генома различных организмов, а также в качестве систем молекулярной диагностики различных заболеваний [1]. Несмотря на активное изучение фермента, субстратная специфичность и механизм расщепления ДНК нуклеазой Cas12a выяснены не полностью. Известно, что расщепление целевой ДНК нуклеазой LbCas12a является PAM-зависимым, и канонической считается последовательность PAM TTTV (где V = A, C или G), однако в некоторых условиях, LbCas12a может распознавать другие, субоптимальные последовательности PAM [2]. В данной работе мы исследовали активность нуклеазы LbCas12a в условиях *in vitro* в присутствии нового PAM TТАА и обнаружили, что в его присутствии специфичность расщепления ДНК-мишени повышается: с помощью гель-электрофореза, а также с использованием меченных FAM одноцепочечных зондов, мы показали, что в случае двуцепочечных делеций расщепление ДНК-мишени происходит только в случае делеции в положениях 19–20, а однонуклеотидные замены во всех положениях направляющей РНК, кроме 20-го, блокируют расщепление ДНК-мишени полностью, что указывает на повышение специфичности нуклеазы в данных условиях. Мы также показали, что тип нуклеотидных замен не влияет на эффективность расщепления [3].

При использовании нового PAM нуклеаза осуществляет расщепление ДНК крайне специфично, поэтому именно с использованием LbCas12a в сочетании с PAM TТАА мы осуществляем разработку системы генотипирования мышей, несущих в геноме точечные мутации, микроделеции и микроинсерции.

- [1] Gootenberg, J. S. et al. Multiplexed and portable nucleic acid detection platform with Cas13, Cas12a and Csm6 // Science 2018, 360, 439–444.
- [2] Zhou, J. et al. Cas12a Variants Designed for Lower Genome-Wide off-Target Effect through Stringent PAM Recognition // Mol. Ther. 2022, 30, 244–255.
- [3] Misiurina, M. A. et al. New PAM Improves the Single-Base Specificity of crRNA-Guided LbCas12a Nuclease // Life 2022, 12(11), 1927.

Работа выполнена при поддержке гранта СПбГУ ID 95445540.



Изучение мутагенной активности CRISPR/Cas9 в дрожжевой модели

А.Р. Шумегга¹, Д.М. Девяткин¹, С.Г. Инге-Вечтомов², Е.И. Степченкова²

¹ Санкт-Петербургский государственный университет

² Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН

shumega84@mail.ru

Широкое распространение получили технологии редактирования генома, основанные на системе адаптивного иммунитета прокариот CRISPR/Cas9. Эти технологии успешно применяют для редактирования геномов бактерий, дрожжей, растений и животных, эмбриональных и стволовых клеток человека. 8 декабря 2023 года впервые к медицинскому применению одобрена методика геномного редактирования для лечения серповидноклеточной анемии. Несмотря на впечатляющие успехи в развитии методов редактирования генома, остается открытым вопрос о генетической безопасности их применения.

Системы CRISPR/Cas9 обладают всеми признаками и свойствами мутагенных факторов. Так, редактирующие комплексы CRISPR/Cas9 вызывают повреждения генетического материала (двунитевые и однострунные разрывы ДНК, дезаминированные основания и др.), которые впоследствии устраняются системами репарации. Неточная репарация приводит к возникновению мутаций разных типов вблизи сайта действия эндонуклеазы Cas9 или в нецелевых участках генома. Таким образом, редактирующим системам CRISPR/Cas9 присущи такие свойства, как: специфичность мутагенного действия, характерный тип вызываемых повреждений ДНК, активация определённого механизма репарации ДНК, тип и частота индуцируемых мутаций, возникающих в «горячих точках» мутагенеза. Некоторые свойства редактирующих комплексов CRISPR/Cas9, связанные со способами их доставки в клетку и влиянием внутриклеточных факторов на их активность, затрудняют оценку генетической опасности систем редактирования с использованием классических методов генетической токсикологии [1], что определяет необходимость разработки новых *in vivo* моделей, позволяющих проводить исследования по изучению факторов, влияющих на мутагенную активность систем редактирования. Удобным объектом при разработке таких моделей являются дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* [2].

Мы разработали уникальную дрожжевую модель для изучения влияния нуклеотидного контекста целевого сайта и других факторов на мутагенную активность Cas9.

[1] Shumega A. R. et al. CRISPR/Cas9 as a Mutagenic Factor. *IJMS*. 2024; 25(2):823.

[2] Stepchenkova E. I. et al. Practical Approaches for the Yeast *Saccharomyces cerevisiae* Genome Modification. *IJMS*. 2023 Jul 26; 24(15):11960.

Работа поддержана грантом РФФИ 20-15-00081.

Симпозиум 14: Дифференцировка и стволовые клетки
Symposium 14: Stem Cells and Differentiation



Дополнительная хромосома клеток половой линии у зебровой амадины: особенности организации

С.А. Галкина¹, О.Д. Такки¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург

svetlana.galkina@mail.ru

Как правило, образование разных типов клеток и тканей не связано с необратимыми изменениями генома и регулируется дифференциальной экспрессией генов. Однако недавнее открытие у певчих птиц дополнительной хромосомы в клетках половой линии (germline restricted chromosome, GRC) показывает, что явление запрограммированной элиминации ДНК при эмбриональной дифференцировке гораздо чаще встречается в природе, чем казалось ранее. GRC певчих птиц содержит последовательности, важные для ранней дифференцировки клеток зародышевой линии, развития ооцита, однако, как реализуется эта информация, пока неясно. Наследование GRC не подчиняется законам Менделя: она элиминируется из соматических клеток в раннем эмбриогенезе, из сперматоцитов, а сохраняется только в ооцитах. Механизм стабильного наследования GRC по материнской линии непонятен, что связано с ограниченностью имеющихся данных. Поведение GRC изучают на модели клеток сперматогенного ряда и ооцитах стадии пахитены, а ее структурную организацию в геномных и транскриптомных проектах. Вместе с тем, очень мало известно об организации GRC с цитогенетической точки зрения. Как устроена центромерная область GRC? Одинаковы ли гомологичные GRC в составе бивалента? Существуют ли какие-либо уникальные особенности, отличающие GRC от других хромосом и которые могут обеспечить ее неменделевское наследование? На эти и другие вопросы мы пытаемся ответить, исследуя GRC на стадии ламповых щеток, изолированную непосредственно из ядра ооцита. Мы подробно описали морфологию GRC на этой стадии и составили ее цитологическую карту. У зебровой амадины GRC является самой крупной хромосомой, на стадии ламповых щеток она содержит около 120 хромомеров, т. е. ~180 млн п. н. С помощью FISH мы картировали теломерные и центромерные последовательности, а также специфичные для GRC повторы. Характерной особенностью бивалента GRC на стадии ламповых щеток являются гетерохроматиновые беспетлевые районы. Эти районы не содержат фосфорилированной формы РНК-полимеразы II, но на определенных стадиях оогенеза могут быть связаны с коилин-позитивными тельцами неизвестной функции. В них может присутствовать небольшое число копий прицентромерного повтора. Мы предполагаем, что эти районы могут играть роль в преимущественной сегрегации GRC, действуя как нецентромера, заставляя GRC быстрее перемещаться к полюсам во время мейотических делений.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда — грант № 24-24-00518.



Кариотипические особенности эндометриальных мезенхимных клеток десквамированного эндометрия *in vitro*

Т.М. Гринчук¹, М.А. Шорохова¹

¹ Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург
shili-mariya@yandex.ru

Оценка генетической стабильности мезенхимных стволовых клеток разного генеза является одним из наиболее важных показателей при их использовании в клинике. В настоящей работе мы проанализировали кариотипическую стабильность 7 клеточных линий эндометриальных мезенхимных стволовых клеток человека (ЭМСК) от здоровых доноров, одну клеточную линию от донора с аденомиозом в процессе длительного культивирования. Так же в рамках настоящей работы было проанализировано влияние длительной криоконсервации (10 лет) на кариотип клеточной линии ЭМСК от здорового донора. Анализ проводился с использованием метода дифференциальной окраски метафазных хромосом на G-диски. Каждая проанализированная линия имела индивидуальный профиль кариотипической стабильности/ нестабильности. Выявляемые дефекты — анеуплоидия, эктопические межхромосомные ассоциации и хромосомные перестройки — носили случайный характер. Все проанализированные клеточные варианты характеризовались однотипными хромосомными дефектами, связанными с поломками хромосомного материала в прицентромерных и/или терминальных районах хромосом. Возникновение поломок в культурах ЭМСК, полученных от здоровых доноров носило случайный характер. В клеточной популяции ЭМСК от больной аденомиозом поломки в хромосомах 7 и 11 встречались неоднократно. В клетках, после многолетней криоконсервации, в поломки вовлекались практически все хромосомы набора. Полученные данные позволяют предположить, что поломки хромосомного материала является типичным для ЭМСК механизмом изменения клеток на уровне кариотипа, в ответ на эндогенное и экзогенное воздействие.

Работа поддержана Грантом РФФ 21-74-20178

Симпозиум 15: Проблемы селекции растений следующего поколения
Symposium 15: Problems of Next Generation Plant Breeding



Оценка variability гена *OcKAI2d* у заразики кумской

М.К. Белова¹, М.А. Лебедева^{1,2}, Л.А. Лутова^{1,2}

¹АНО ВО «Сириус»,_Сириус

² Санкт-Петербургский государственный университет,_Санкт-Петербург

belovamargo@list.ru

Заразиха кумская (*Orobanchе ситана* Wallr.) является облигатным паразитическим растением, специфично поражающим подсолнечник и способным вызвать значительные потери его урожая. Получение в ходе селекции новых сортов подсолнечника, устойчивых к заразице, сопровождалось появлением новых вирулентных рас заразицы, которые преодолевали действие генов устойчивости. На данный момент выделяют восемь рас заразицы (А-Н). Идентификацию рас заразицы осуществляют с использованием тестерных линий подсолнечника (линий-дифференциаторов) с охарактеризованной устойчивостью к известным расам заразицы. Вместе с этим, важной задачей является разработка молекулярно-генетических подходов для идентификации семян заразицы в почве, используемой для выращивания подсолнечника, а также оценка степени гетерогенности природных популяций заразицы с помощью ДНК-маркеров.

В нашей работе были отработаны методы выделения ДНК из семян заразицы, а также из клубней и цветоносов, полученных от паразитирующих на подсолнечнике растений заразицы. Для оценки природной гетерогенности последовательностей ДНК заразицы нами был выбран ген *OcKAI2d* (*KARRIKIN-INSENSITIVE2d*), кодирующий рецептор стриголактонов — фитогормонов, важных для прорастания семян заразицы. Нами были амплифицированы фрагменты гена *OcKAI2d*, проведено их клонирование и секвенирование. Различия в последовательностях клонированных фрагментов гена *OcKAI2d* указывают на возможную гетерозиготность анализируемых растений заразицы по данному гену. В дальнейшем мы также планируем использовать в работе ДНК-маркеры, разработанные на основе известных SSR-локусов *O. ситана*, для оценки полиморфизма природных популяций заразицы, а также для возможности генотипирования банка семян заразицы в почвах, используемых для выращивания подсолнечника.



Использование методов цифрового фенотипирования для детекции проявления аллельного состояния *TaNGR5-1B* у мягкой пшеницы

А.А. Кочешкова¹, Т.Д. Мохов¹, Д.Ю. Литвинов¹, А.А. Ульянова¹, М.С. Баженов¹, Д.С. Ульянов¹,
М.Г. Дивашук¹, Г.И. Карлов¹

¹ ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Москва
alina.korotaeva@gmail.com

Повышение эффективности использования азота совместно с сохранением высоких урожаев — одна из важнейших целей селекции мягкой пшеницы. Для улучшения эффективности использования азота целесообразно изучение генетики данного признака и использование методов маркер-опосредованной селекции.

Так на рисе было показано, что ген *NGR5* (nitrogen-mediated tiller growth response, азот-опосредованный рост боковых побегов, семейство AP2/EREBP) отвечает за азот-опосредованный рост боковых побегов, конкурируя за комплекс *GID1*-ГК с продуктом экспрессии гена *Rht*, что приводило к образованию боковых высокопродуктивных побегов [1].

Цель исследования — оценить влияние аллельного состояния гена *TaNGR5-1B* на показатели, анализируемые с помощью цифрового фенотипирования у сортов мягкой пшеницы, контрастных по данному гену.

В базе данных нуклеотидных последовательностей мягкой был найден ген-ортолог риса *NGR5*. Последовательность гена и ее фланкирующие последовательности были амплифицированы и секвенированы у 11 сортов мягкой пшеницы контрастной по фенотипическим данным. В промоторе гена *TaNGR5-1B* был выявлен полиморфизм 4 п. н. и на данный полиморфизм разработан молекулярный KASP маркер. На данный маркер проведен скрининг коллекции мягкой пшеницы, состоящей из 254 сортов.

Среди данной коллекции нами были отобраны 19 сортов, несущие разные аллели гена *TaNGR5-1B* для цифрового фенотипирования с помощью системы цифрового фенотипирования TraitFinder (Phenosrex, Нидерланды). Растения выращивались и фенотипировались в течении 28 дней на контрастных условиях: с внесением нитрата и без внесения. Растения, несущие аллель *pNGR5-1Bb*, статистически значимо отличаются более высоким NDVI и более высоким значением зелени как при внесении азота, так и без него.

[1] Wu K. et al. Enhanced sustainable green revolution yield via nitrogen-responsive chromatin modulation in rice // Science. — 2020. — Т. 367. — № 6478. — С. eaaz2046.

Исследование выполнено при финансовой поддержке государственного задания № FGUM-2022-0001.

Симпозиум 16: Регуляция действия гена и эпигенетика
Symposium 16: Regulation of Gene Expression and Epigenetics



Экспрессия генов, кодирующих цитоскелетные белки, в очагах эндометриоза различной локализации

Е.Ю. Горбачева¹, К.А. Тонян¹, Н.С. Бирюков¹, В.В. Бояринцев², И.В. Огнева¹

¹ ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва

² Центральная государственная медицинская академия УДП РФ, Москва

helen-gorbacheva@yandex.ru

Эндометриоз представляет собой формирование очагов из ткани, подобной эпителию эндометрия, вне полости матки. Целью исследования было определение содержания белков актинового и тубулинового цитоскелета, участвующих в миграции эндометрийподобных клеток, экспрессии кодирующих их генов и эпигенетических регуляторов транскрипции. Мы предположили, что увеличение дистанции локализации эктопического эндометрия от места эутопической локализации может быть ассоциировано с изменением паттерна цитоскелетных белков в сторону увеличения миграционного потенциала на фоне изменения экспрессии соответствующих генов.

Мы не наблюдали изменения содержания изоформ актина во всех группах исследования. Однако содержание одной из изоформ актин-связывающего белка, альфа-актина1 (ACTN1), так же, как и экспрессия его гена, увеличивались в группах с эндометриозом, причем чем наиболее выраженным это увеличение было в случае крайне редко встречающегося эндометриоза пупка. Для ACTN1 показано возрастание миграционного потенциала различных клеток с его оверэкспрессией, например, в случае плоскоклеточного рака пищевода (Xu J. et al., 2019) и базальноподобного рака молочной железы (Kovac A. et al., 2018).

Тем не менее возрастание ACTN1 не приводит в случае эндометриоза к малигнизации процесса, чего можно было бы ожидать для форм экстрагенитального эндометриоза. Но полученные данные свидетельствуют о том, что содержание основных белков микротрубочек, альфа- и бета-тубулина, в этих случаях оказалось сниженным, так же, как и экспрессия их генов, что может обуславливать доброкачественность процесса. Однако остается вопрос, с чем связаны изменения экспрессии генов, кодирующих альфа-актинин1 и изоформы тубулина в наблюдаемых случаях.

Показано, что ингибиторы гистоновых деацетилаз приводят к снижению содержания альфа-тубулина (Araujo-Silva C. A. et al., 2021), однако, в некоторых случаях эндометриоза, наоборот, находят повышение активности гистондеацетилаз (Colon-Diaz M. et al., 2012; Xia M. et al., 2013; Samartzis E. P. et al., 2013). Мы определяли содержание ацетилазы HAT1 и деацетилазы HDAC1 в биоптатах контрольных групп и групп с эндометриозом и не обнаружили отличий.

Поэтому, для определения возможных факторов, влияющих на экспрессию цитоскелетных генов, мы определили содержание промежуточного продукта метилирования генома — 5-гидроксиметилцитозина и ферментов, регулирующих его содержание. Во всех группах с эндометриозом содержание 5hmC было выше уровня контроля, при этом содержание активной деметилазы TET3 снижено при неизменном содержании метилазы. Можно предположить, что накопление 5hmC в клетках эктопического эндометрия может быть связано со снижением в них деметилазы TET, иными словами, нормальный процесс метилирования/деметиления генома в этом случае сдвинут в сторону метилированного состояния. Хотя увеличение метилирования генома чаще связывают со снижением уровня экспрессии, тем не менее некоторые гены могут избегать этого и быть гипометилированными при общем гиперметилировании, как при различных заболеваниях, так и при адаптации к экстремальным состояниям (Das P. M., Singal R., 2004; Loktev S. S., Ogneva I. V., 2019; Pappalardo X. G., Barra V., 2021), демонстрируя высокий уровень экспрессии на фоне транскрипционного молчания, что может объяснять высокий уровень экспрессии ACTN1 в исследованных нами случаях эндометриоза.

Работа поддержана программой фундаментальных исследований ГНЦ РФ — ИМБП РАН FMFR-2024–0041.



Ген *swiss cheese Drosophila melanogaster* и его роль в репродуктивной системе самцов

Е.А. Иванова¹, Е.В. Рябова¹, Е.М. Латыпова¹, А.Е. Комиссаров¹, С.В. Саранцева¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина

ivanova_ea@pnpi.nrcki.ru

Репродуктивная система *D. melanogaster* является удобной системой для изучения процессов поддержания и развития зародышевых клеток (сперматогенез), а также соматических клеток цисты, дающих начало тканям, окружающим и поддерживающим образование гамет. Процесс сперматогенеза является многостадийным: зародышевые клетки проходят сначала несколько митотических делений, затем подвергаются мейозу и затем удлинняются и скручиваются, превращаясь в полноценные сперматозоиды. Правильное функционирование данной системы органов обеспечивают различные гены, нарушение работы которых может приводить к образованию нефункциональных гамет, что выражается в снижении плодовитости мух.

Недавние исследования, проведенные в Лаборатории экспериментальной генетики Отделения молекулярной и радиационной биофизики НИЦ «Курчатовский институт» — ПИЯФ, показали высокую экспрессию гена *swiss cheese (sws)* в различных системах органов, в частности репродуктивной [1]. Данный ген кодирует фосфолипазу В, которая расщепляет внутриклеточный фосфатидилхолин/лизосомальный фосфатидилхолин с образованием глицерофосфохолина и жирных кислот. У мух с дисфункцией гена *sws* наблюдаются нарушения в нервной системе (прогрессирующая нейродегенерация и снижение двигательной активности) [2, 3], но состояние других систем органов до сих пор остается неизвестным.

В данной работе было проведено исследование состояния репродуктивной системы самцов с мутацией в гене *sws (sws1)*.

- [1] Melentev P. A. et al. *Drosophila* Lysophospholipase Gene *swiss cheese* Is Required for Survival and Reproduction // *Insects*. 2022. V. 13. №1. P. 14–35.
- [2] Ryabova E. V. et al. Morpho-Functional Consequences of *Swiss Cheese* Knockdown in Glia of *Drosophila melanogaster* // *Cells*. 2021. V. 10. № 3. P. 529–548.
- [3] Melentev P. A. et al. Loss of *swiss cheese* in Neurons Contributes to Neurodegeneration with Mitochondria Abnormalities, Reactive Oxygen Species Acceleration and Accumulation of Lipid Droplets in *Drosophila* Brain // *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. V. 22. № 15. P. 8275–8303.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 1023031500037–7–1.6.8;1.6.1;1.6.2;1.6.3 *Изучение молекулярных и клеточных компонентов патогенеза социально-значимых заболеваний для разработки методов ранней диагностики и лечения*).



Специфичность антирестриктаз ArdA к ДНК-связывающим белкам

А.А. Кудрявцева¹, А.А. Уткина¹, И.В. Манухов¹

¹ МФТИ, Долгопрудный

kudryavtseva@phystech.edu

Антирестрикционный белок ArdA ингибирует систему рестрикции-модификации I типа (RMI). Антирестрикционная активность ArdA обусловлена его ДНК-мимикрирующей структурой и заключается в конкурентном ингибировании комплекса RMI.

Мы исследовали возможность регуляции экспрессии генов в *Escherichia coli* с помощью белков ArdA, гены которых были клонированы из хромосомы *Bifidobacterium bifidum* и из конъюгативной плазмиды pKM101. Мы выяснили, что ДНК-миметики типа ArdA могут не только регулировать экспрессию ряда генов в *E. coli*, но и спектр регулируемых мишеней различен для двух исследованных ArdA белков. Более того, в ряде случаев мы наблюдали противоположно направленную регуляцию генной экспрессии в *E. coli* посредством двух исследованных ArdA белков.

После этого мы попытались оценить специфичность активности нескольких различных белков ArdA по отношению к целому ряду систем рестрикции-модификации (RMI: EcoKI, EcoAI, EcoR124 из *E. coli*). Ранее мы показали, что белок ArdA из конъюгативной плазмиды pKM101 может успешно ингибировать лишь некоторые из изученных RMI систем, а потому, по-видимому, обладает специфичностью к их сайтам узнавания.

Мы сконструировали изогенные системы для сравнения эффектов воздействия трех вновь описанных ArdA белков из *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas monteilii* и *Xanthomonas* sp. на RMI системы грамотрицательных бактерий: EcoKI, EcoAI, EcoR124II. Для проверки антирестрикционной активности мы оценивали эффективность посева немодифицированного фага лямбда.

Мы показали, что способность ингибировать три RMI системы различна для трех исследованных ArdA белков. Учитывая, что формфактор предсказанных структур ArdA белков практически полностью совпадает, можно предположить существование небольших специфических структурных различий, способных мимикрировать под конкретный сайт узнавания RMI-системы.

Полученные нами данные о высокой специфичности ArdA по отношению к ДНК-связывающим белкам, а также о возможности регуляции генной экспрессии посредством ArdA белков дают надежды на перспективность использования этих ДНК-миметиков в качестве основы для дизайна белков для специфичного ингибирования ДНК-связывающих регуляторов.

Работа выполнена при поддержке РФФ (22-74-00027).



Изучение генетических сетей, задействованных в ответ на витамин К и варфарин у *Drosophila melanogaster*

А.И. Лавренова¹, И.В. Кукушкина¹, О.И. Клычников¹, Л.Н. Нефёдова¹

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва
anigd_1999@mail.ru

Витамины группы К — это жирорастворимые витамины, которые синтезируются бактериями (витамин К₂) и растениями (витамин К₁). Также существуют и синтетические витамины К (К₃-К₇). У бактерий и растений витамин К является переносчиком электронов; у млекопитающих — участвует в карбоксилировании белковых факторов свертывания крови и некоторых белков костной ткани, выступая кофактором фермента гамма-глутамилкарбоксилазы (ГГК). В процессе реакции карбоксилирования, витамин К окисляется до эпоксида и восстанавливается эпоксиредуктазой витамина К (ВКОР). Варфарин — вещество, которое связывается с ВКОР и ингибирует процесс восстановления эпоксида витамина К, таким образом препятствуя его дальнейшему участию в реакции карбоксилирования.

Drosophila melanogaster является хорошим модельным объектом для изучения метаболизма витамина К, так как у нее обнаружены гены ГГК и ВКОР, а варфарин не вызывает негативных физиологических эффектов. Однако остается непонятным, для чего в организме дрозофилы нужен витамин К и как он повлияет на эпигенетический профиль и, как следствие, регуляцию экспрессии генов. Целью нашей работы было определить генную сеть, задействованную в ответе на воздействие витамина К₃ (менадиона) и ингибитора цикла витамина К (варфарина) у имаго *D. melanogaster*.

Мы определили концентрацию полулетальную концентрацию менадиона — 3,5мМ; также мы подобрали концентрацию варфарина (1мМ), которая нивелировала отрицательные эффекты менадиона. Было проведено секвенирование транскриптома мух, выращенных на полулетальной (3,5мМ) концентрации менадиона, варфарине (1мМ) и смеси менадиона и варфарина, и определен круг генов, дифференциально экспрессирующихся в ответ на воздействие этих веществ. Показано, что варфарин стимулирует экспрессию генов иммунного ответа. Также варфарин снижает уровень экспрессии АТФ-связывающих белков, в частности, киназ и хеликаз, а менадион — мембран-ассоциированных, в частности, белков-транспортеров. При совместном применении этих веществ, эффекты суммируются, что говорит о независимом влиянии менадиона и варфарина на экспрессию генов.

Работа выполнена при поддержке Программы развития МГУ, проект № 23-Ш04-34.



Исследование влияния проходящей транскрипции на связывание архитектурных белков с инсуляторами из *Bithorax*-комплекса дрозофилы

Г.А. Манукян¹, О.В. Кырчанова¹, А.Н. Ибрагимов¹, О.Г. Максименко¹, П.Г. Георгиев¹, М.В. Тихонов¹

¹ ФГБУН Институт биологии гена РАН, Москва

galya_manukyan@mail.ru

Помимо кодирующих последовательностей РНК-полимераза II синтезирует большое количество длинных некодирующих РНК (нкРНК), которые находятся в регуляторных областях генов. Такие нкРНК могут выполнять разные регуляторные функции, но оказалось, что сама транскрипция также может влиять на активность энхансеров и инсуляторов, что было показано на примере *Bithorax*-комплекса (ВХ-С) дрозофилы. Транскрипция гомеозисных генов в ВХ-С регулируется в каждом сегменте дрозофилы отдельным регуляторным доменом, который ограничен инсуляторами. С инсуляторами связываются архитектурные белки Su(Hw), Pita и CTCF, которые определяют автономность каждого регуляторного домена. Было показано, что транскрипция через инсуляторы приводит к их инактивации, что можно объяснить негативным влиянием транскрипции на связывание архитектурных белков.

Для тестирования данной модели нами был получен набор 4-х трансгенных линий, в которых конструкции были интегрированы в район 22A, в котором нет картированных генов или некодирующих транскриптов. Две конструкции содержали участок длиной 248 п. н. инсулятора *Fub1* из регуляторной области ВХ-С, в котором идентифицирован один сайт связывания для белка CTCF. В одной из них сильная транскрипция через тестируемый элемент инициировалась с конститутивного промотора гена актина. В остальные две конструкции был интегрирован искусственный элемент, состоящий из 5-ти сайтов связывания белка CTCF. Транскрипция в одной из них запускалась аналогично. Оба элемента были встроены между кодирующими областями генов *Rluc* и *eGFP*. Связывание анализировали методом иммунопреципитации хроматина, выделенного из трехдневных мух, транскрипцию — с помощью ОТ-кПЦР. В результате не наблюдалось достоверно значимого изменения уровня обогащения CTCF и его партнера CP190 на тестируемых элементах при индукции сильной транскрипции.

Таким образом, проходящая транскрипция не влияет на связывание архитектурного белка CTCF. Полученные результаты демонстрируют, что инактивация активности инсуляторов при прохождении РНК-полимеразы II не являются следствием дестабилизации связывания архитектурных белков.

Поддержано грантом РНФ (23-44-00038) и грантом Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (075-15-2019-1661).



Характеристика повторяющихся элементов из геномов птиц

А.Ф. Сайфитдинова¹

¹ *Российский государственный педагогический университет им. А. И. Герцена*

saifitdinova@mail.ru

Успехи в секвенировании геномов различных организмов показали, что эволюционно удалённые виды характеризуются присутствием высококонсервативных кодирующих последовательностей и регуляторных элементов генома. В то же время существенные морфологические отличия связаны с изменениями регуляции активности генов и программы развития. В настоящий момент все большее значение в осуществлении такой регуляции отводится некодирующим элементам генома, ответственным за поддержание архитектуры ядра, структуры хроматина, а также участвующим в регуляции экспрессии генов на разных уровнях.

Как и у всех высших эукариот, в геномах птиц присутствуют тандемные и рассеянные (диспергированные) повторяющиеся элементы, последние, в свою очередь, представлены разными классами мобильных элементов с разной степенью сохранности способности к транспозиции. Характерной особенностью геномов птиц оказалось сокращение доли повторяющихся элементов, что существенно отличает их от большинства высших эукариот, в особенности от млекопитающих. Большинство некодирующих элементов в геномах птиц представлены множественными копиями, распределение которых может носить как рассеянный характер, так и тандемный, причём ориентация в пределах блока тандемных повторов может быть как «голова к хвосту» так и «голова к голове», что дополнительно может определять свойства как последовательности ДНК, так и образующихся транскриптов. Однако именно особенности их организации в геноме создают трудности для сборки и правильной локализации таких участков генома.

Результаты наших исследований, полученные на основе анализа сырых данных полногеномного секвенирования, в том числе с использованием длинных прочтений, дают наиболее полную картину разнообразия повторяющихся элементов, особенно существенно они дополнили информацию о составе и доле в геноме тандемных повторов, сведения о которых были скудно представлены в полногеномных сборках. Данные о наиболее высококопийных тандемных повторах в геноме курицы подтверждают общую тенденцию к утрате повторяющихся элементов в геномах птиц с преобладанием в списке представителей различных микросателлитов. Обсуждаются вопросы функциональной роли повторяющихся последовательностей птиц в половых и соматических клетках.

Работа была выполнена в рамках научно-исследовательского направления № 21 «Адаптивные реакции биологических систем на специфические и неспецифические воздействия факторов внешней среды» РГПУ им. А. И. Герцена.



Специфичность антирестрикционного белка ArdB

А.А. Уткина¹, А.А. Кудрявцева², И.В. Манухов²

¹ Москва 2РОСБИОТЕХ, _МОСКВА

utkina.anna.a@phystech.edu

Белок антирестрикции ArdB — это эволюционное приспособление вирусов и конъюгативных плазмид, нацеленное на защиту их ДНК от экзонуклеазной активности бактериальных ферментов рестрикции-модификации типа I (RMI) [1]. Целью данной работы явилась оценка способности антирестриктазы ArdB ингибировать различные подтипы систем RMI *Escherichia coli* (IA, IB и IC), а также две системы RMI *Bacillus licheniformis*. В рамках данной работы впервые клонированы гены RMI систем BliA и BliB грамположительного микроорганизма *B. licheniformis*. Показана их способность к рестрикции фага лямбда в гетерологичных условиях — клетках *E. coli*.

В качестве количественной меры антирестрикционной активности ArdB использовалось образование бляшек немодифицированного фага лямбда на газоне клеток *E. coli* с различными комбинации плазмид, несущих гены рестрикции и антирестрикции [2].

Несмотря на то, что механизм действия антирестрикционного белка ArdB пока не выяснен, нами было показано, что его специфичность мало зависит от сайта узнавания рестриктазы, поскольку по данным фагового посева он эффективен относительно всех протестированных рестриктаз первого класса. Данное свойство отличает ArdB от другого белка семейства Ard — ДНК-миметика ArdA, который эффективен против RMI систем грамотрицательных бактерий.

Полученные результаты свидетельствуют об универсальности белка антирестрикции ArdB, способного выступать в качестве агента в горизонтальном переносе генов между грамотрицательными и грамположительными бактериями.

[1] Delver, E. P., Kotova, V. U., Zavilgelsky, G. B., & Belogurov, A. A. Nucleotide sequence of the gene (ard) encoding the antirestriction protein of plasmid colIb-P9 // J. Bacteriol 1991 Sep;173(18):5887-92. doi: 10.1128/jb.173.18.5887-5892.1991.

[2] Zavil'gel'skii G. B. [et al.]. Weakening of bacteriophage lambda EcoK DNA restriction in the presence of plasmid pKM101 ard+. I. General characteristics and genetic localization // Mol Biol 1984 Nov-Dec;18(6):1590-6.

Авторы выражают благодарность поддержке государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект FSMF-2023–0010).



Система флуоресцентных сенсоров для исследования стрессового ответа МИКОПЛАЗМ

Е.А. Цой¹, Г.Ю. Фисунов¹, В.М. Говорун¹

¹ ФБУН НИИ системной биологии и медицины Роспотребнадзора, Москва
eatsoy2012@gmail.com

Микоплазмы (Молликуты) — филогенетическая группа бактерий, подвергшаяся сильной редукции генома. Как следствие, многие молекулярный механизмы в них сильно редуцированы или отсутствуют. В частности почти полной редукции подверглись системы регуляции экспрессии генов. Несмотря на это микоплазмы демонстрируют хорошую способность адаптироваться к стрессовым условиям. Мы предположили, что микоплазмы могут обладать альтернативными механизмами как адаптации к изменениям окружающей среды, так и регуляции экспрессии генов. Одним из развивающихся методов изучения организации внутреннего содержимого клеток является флуоресцентная микроскопия, в том числе сверхвысокого разрешения. Для этого используются флуоресцентные генетически кодируемые биосенсоры, которые позволяют детектировать различные характеристики внутриклеточной среды.

В данной работе мы адаптировали два биосенсора: Sypher3s, детектирующий изменения pH, и MaLionG, позволяющий визуализировать пространственно-временное распределение АТФ для использования в микоплазмах. В качестве объектов нашего исследования были выбраны два модельных объекта (*E. coli* и *Mycoplasma gallisepticum*). Вследствие того, что ГЦ-состав геномов микоплазм составляет порядка 30%, для них характерны иные частоты встречаемости кодонов, чем для классических модельных объектов (*E. coli*, клеток млекопитающих). В связи с этим, необходимо было адаптировать кодонный состав генов флуоресцентных белков для экспрессии в микоплазме и создать вектор, который мог бы обеспечить эффективную экспрессию белков в *E. coli* и *M. gallisepticum*. При помощи программы VAC-browser, в нашей лаборатории была разработана и собрана универсальная генетическая конструкция для обоих модельных объектов. Полученными нами векторами, содержащие в своем составе Sypher3s или MaLionG, были трансформированы *E. coli* и *M. gallisepticum*. В ходе работы были получены штаммы бактерий, содержащие собранные нами генетические конструкции. Доказано, что в полученных штаммах экспрессируются флуоресцентных биосенсоры Sypher3s или MaLionG. Созданные нами генетические конструкции будут использованы в дальнейшем для исследования организации основных принципов организации бактериальных клеток.

Работа финансировалась по заданию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека в рамках темы «Создание искусственных клеточных систем» рег. № 1022040800170–3–1.6.23.



Регуляция пектинолиза у *Pectobacterium versatile*

М.А. Шарангович¹, Ю.В. Дюбо¹, А.В. Колубако¹, П.В. Вычик¹, А.В. Крук¹, У.А. Кравченко¹,
Е.А. Николайчик¹

¹ Белорусский государственный университет, Минск
msharangovichus@gmail.com

Pectobacterium versatile — патоген широкого круга растений. Основные факторы вирулентности этой бактерии — ферменты, разрушающие пектины растительной клеточной стенки. *P. versatile* продуцирует 22 пектиназы, отличающиеся друг от друга механизмом действия, субстратной специфичностью, оптимальными для работы физико-химическими условиями. Большинство генов пектинолиза моноцистронны, что позволяет бактерии адаптировать набор ферментов сообразно стадии инфекционного процесса путем транскрипционной регуляции. Анализ сайтов связывания транскрипционных факторов (ССТФ) в регуляторных областях генов пектинолиза может дать представление о путях регуляции экспрессии последних.

С помощью программы SigmaID и веб-ресурса BacRegDB в регуляторных областях генов пектинолиза *P. versatile* 3–2 обнаружены потенциальные ССТФ для PhoP, Cbl, SlyA, CRP, OmpR, ArcA, FNR, KdgR. Для части регуляторов получены мутантные штаммы и конструкции для сверхэкспрессии соответствующих генов. Экспериментально подтверждено влияние генов *phoP*, *cbl* и *slyA* на пектолитическую активность *P. versatile*.

Анализ расположения ССТФ и экспериментальные данные позволяют заключить, что:

- набор ССТФ уникален для каждой регуляторной области;
- экспрессия генов пектиназ больше зависит от глобальных регуляторов PhoP, FNR и OmpR, чем от KdgR;
- SlyA контролирует все 4 гена основного пектолитического кластера *pelApelBpelCpelZ*;
- несколько пектолитических генов контролирует Cbl (состав регулона исследуется).
- *phoP* регулирует *cbl*, формируя транскрипционный каскад, с учетом которого PhoP является основным регулятором пектинолиза.

С учетом свойств регуляторов наш анализ подчеркивает роль концентраций дивалентных катионов (через PhoPQ), анаэробноза (FNR и ArcA) и фенольных соединений (SlyA) в контроле интенсивности и очередности экспрессии пектиназ. А расположение ССТФ в геномах родственных штаммов пектобактерий показывает, что регуляция ортологичных генов часто радикально отличается, что может определять особенности их взаимодействия со своими хозяевами.

Симпозиум 17: Популяционная генетика
Symposium 17: Population Genetics



Молекулярная характеристика сортов вики посевной (*Vicia sativa* L.) на основе белковых, SSR- и SRAP-маркеров

А.А. Антонов¹, И.А. Клименко¹, Э.Э. Егги², Т.Г. Александрова²

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени В.Р. Вильямса»

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова»

antonov4b@yandex.ru

Анализ генетического разнообразия на внутривидовом и внутривидовом уровне особенно актуален для вики посевной (*Vicia sativa* L.), по которой нет данных о полногеномном секвенировании. Цель работы — оценить генетическую структуру сортов Луговская 98 (ФНЦ ВИК), Спутница (ГУП МО МСС), Цивильянка (ФАНЦ Северо-Востока), Юбилейная 110 (ФНЦ ЗБК) с использованием молекулярных маркеров, характеризующих полиморфизм белков семян, варибельность микросателлитных (SSR-маркеры) и интрон-экзонных участков генома (SRAP-маркеры). Определение белкового полиморфизма проведено в ВИР методом SDS электрофореза (Конарев, 2000). Составлены белковые формулы сортов на основе выделенных в полипептидных спектрах семян семи зон по «соевой шкале». В каждой зоне определены варианты сочетаний компонентов спектра с учетом их интенсивности и частоты встречаемости. По уровню варибельности белковых спектров наиболее однородным является сорт Юбилейная 110 («белковая формула»: 1а.2б.3б.4б.5а1.6б.7в.). К варибельным отнесены сорта Луговская 98 и Спутница, к сверхварибельным — сорт Цивильянка (1а. [2а:2б≈3:2].3а.4а.5а1.6б2. [7а:7в≈7:3]). Анализ внутрисортного аллельного полиморфизма на уровне ДНК проведен в ВИК с использованием набора из 6 праймеров к SRAP-маркерам (Rhouma et al., 2017) и такого же количества SSR-праймеров (Chung et al., 2013). С помощью SSR-маркеров выявлена высокая однородность сортов: среднее число биотипов с различающимися ДНК-профилями составило 1,4 (наибольшее — 1,5 у сорта Луговская 98), средняя выравненность сортов — 95,0%. Результат был ожидаемым с учетом репродуктивной системы культуры (самоопылитель) и достаточно консервативной природой микросателлитов. Внутрисортная варибельность по данным SRAP-анализа оказалась высокой: выравненность сортов — 69,2%, среднее число различающихся биотипов — 2,7 с наибольшей изменчивостью у сорта Спутница — 65% и 3,3, соответственно. Использование трех видов молекулярных маркеров показало однородность сорта Юбилейная 110 и невыровненность сортов Луговская 98, Спутница и Цивильянка. Работа выполнена в рамках государственных заданий № FGGW-2022-0007 и № FGEM-2022-0002.

- [1] Идентификация сортов и регистрация генофонда культурных растений по белкам семян / Под ред. В. Г. Конарева. СПб., 2000. 186 с.
- [2] Rhouma H. B. et al. Assessment of the genetic variation in alfalfa genotypes using SRAP markers for breeding purposes // Chilean journal of agricultural research. 2017. V. 77. № 4. P. 332–339.
- [3] Chung J. W. et al. Development of 65 novel polymorphic cDNA-SSR markers in common vetch (*Vicia sativa* subsp. *sativa*) using next generation sequencing // Molecules. 2013. V. 18. № 7. P. 8376–8392.



Идентификация комаров рода *Anopheles* Черноморского побережья Кавказа молекулярно-генетическими и цитогенетическими методами

А.Г. Бега^{1,3}, Д.Н. Логинов², Е.Ю. Ли¹, В.И. Панов¹, Б.В. Андрианов³, И.И. Горячева^{1,3}, М.И. Гордеев¹,
А.В. Москаев¹

¹ Государственный университет просвещения, Мытищи

² ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам», Минск

³ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

anni.miya@gmail.com

Черноморское побережье Кавказа — регион с субтропическим климатом, где возможно круглогодичное циркулирование трансмиссивных заболеваний. Основной массив данных по ареалам видов малярийных комаров получен в период 1920–1960 гг. Урбанизация региона привела к изменению фауны. Необходимо обновить список видов, изучить распространение, экологические особенности и генетическую изменчивость популяций комаров рода *Anopheles* (Diptera, Culicidae) данного региона.

Проведены полевые сборы личинок и имаго малярийных комаров в период 2015–2024 гг. Нами были охвачены личиночные биотопы. Каждая особь идентифицировалась нами индивидуально с помощью цитогенетических и молекулярно-генетических методов. Нами была подобрана серия праймеров. Идентификацию видов *An. daciae*/ *An. messeae* мы проводили по области *ITS2*, полученной с праймеров 5,8S (5'-TGAACGACAGGACACATGAAC-3') и 28S (5'-CCTACGTGCTGAGCTTCTCC-3'), что позволило захватить дополнительный полиморфный сайт относительно фрагмента, предложенного ранее (Artemov et al, 2021). *An. plumbeus* анализировали по BOLD фрагменту митохондриального гена *COI*, с помощью адаптированных фолмеровских праймеров: (5'-TTTCAACAAATCATAAGGATATTGG-3') и (5'-TATACTTCTGGGTGTCCAAAAAATC-3'). ПЦР амплификацию для всех подобранных нами пар праймеров проводили при температуре отжига 59 °С.

Мы выявили 7 видов малярийных комаров на Черноморском побережье Кавказа: *An. atroparvus* Van Thiel, 1923; *An. claviger* Meigan, 1904; *An. hyrcanus* Pallas, 1771; *An. maculipennis* Meigan, 1818; *An. daciae* Linton, Nicolescu & Harbach, 2004; *An. melanoon* Hackett 1934 и *An. plumbeus* Stephens, 1828. *An. daciae* зарегистрирован впервые. Впервые определено, что *An. daciae* выбирает в качестве мест для кладки яиц крупные, стационарные стоячие водоёмы. *An. melanoon* был найден только в Имеретинской долине Кавказа. Доминирующим видом является *An. maculipennis*. Этот вид превалировал в заводях горных рек. Отмечавшиеся ранее на Черноморском побережье виды *An. algeriensis*, *An. messeae* и *An. superpictus* не обнаружены. Нами установлено расширение ареала и биотопических предпочтений у *An. plumbeus*. Ранее этот вид обитал исключительно в широколиственных лесах, а в настоящий момент распространился в селитебной зоне. Выявлен хромосомный инверсионный полиморфизм в популяциях *An. atroparvus*, *An. daciae*, *An. plumbeus* и *An. maculipennis*.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (РНФ) № 24-44-10003, <https://rscf.ru/project/24-44-10003>.



Изучение генетической архитектуры в агро- и аквахозяйстве

А.А. Белоус¹, П.И. Отраднов¹, А.А. Сермягин¹, Н.В. Бардуков¹, Н.А. Зиновьева¹

¹ ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста

belousa663@gmail.com

Цель исследований состояла в изучение генетических механизмов формирования хозяйственно-полезных фенотипов объектов товарной аквакультуры и сельскохозяйственных животных и разработка молекулярно-генетических тест-систем, способов и технологий управления генетическими ресурсами и повышения степени реализации генетического потенциала.

Проведены расчеты кормового поведения и хозяйственно-полезных признаков свиней породы дюрок по методологии BLUP Animal Model, GBLUP, ssGBLUP и wssGBLUP. Выявлена взаимосвязь оценок племенной ценности, полученных с применением разных подходов.

Получены результаты полногеномного ассоциативного исследования по показателю прогнозируемого остаточного потребления корма у свиней породы дюрок и помесных боровов второго поколения. Получен GWAS по показателям среднесуточного прироста и конверсии корма помесных свиней второго поколения. Проведена аннотация генов, выявлены значимые биологические функции. Проведена структурная и функциональная аннотация выявленных генов, изучены протоколы по их экспрессии.

Проведено научно-практическое исследование по выявлению эталонного значения цвета свинины у свиней породы дюрок и их помесей, выявление спектра было на основании платформы LAB, прибором спектрофотометр.

Получен генетический профиль сибирского осетра ленской популяции, разработана генетическая паспортизация по оценке чистопородности и достоверности происхождения — 7 микросателлитных локусов.

В ходе исследований применялись аналитические и зоотехнические методы, экспериментальные исследования, подходы по оценке племенной ценности животных, молекулярно-генетические методы, цифровые технологии, технологии высокопроизводительного генотипирования.



Использование RAPD-маркеров в исследовании полиморфизма горных популяций Одуванчика лекарственного (*Taraxacum officinale* Wigg.)

З.И. Бисултанова¹, П.М. Джамбетова¹

¹ ФГБОУ ВО «Чеченский государственный университет им. А.А. Кадырова»

zura_sun@mail.ru

Для изучения генетического статуса популяций и установления внутривидовых взаимоотношений у растений широко используется простой и эффективный метод маркирования генетического материала путем амплификации ДНК с произвольными праймерами (RAPD-PCR) [1]. Проведено исследование с помощью RAPD-маркеров генетического полиморфизма *Taraxacum officinale* Wigg. с широкой экологической пластичностью, произрастающей в высокогорных районах Чеченской Республики (875–2200 м н. у. м.). Использовали пять праймеров RAPD (OPC-04, OPC-05, OPD-07, OPC-08, AFK-03), взятых из открытых источников. Только 4 из пяти праймеров RAPD дали поддающийся оценке фингер-принтинг и полиморфизм. Всего было амплифицировано 26 фрагментов, 25 из них были полиморфными, в среднем 6 полос на праймер. Общий полиморфизм составил 96,1%. Размер амплифицированных фрагментов варьировал от 150 до 1200 п. н. Праймер OPD-07 дал максимальное количество полиморфных (в среднем 9) полос. Наименьшее количество полиморфных полос (7 полос) было получено при использовании праймера OPC-04. Исследованные образцы одуванчика лекарственного произрастали на разной высоте, поэтому можно было предположить существование внутривидовой генетической изменчивости дикорастущих растений, связанной с географическим расположением (высота над уровнем моря). Определение генетического разнообразия и генетических отношений между популяциями *T. officinale*, произрастающих в высокогорье, с помощью RAPD маркеров, показал, что внутри вида полиморфизм, в зависимости от праймера, может проявляться в разной степени. Анализ визуализированных ампликонов показывал, что растения разных популяций обнаруживают как высокое генетическое сходство, так и значительные различия. Размеры ампликонов, полученные с помощью праймера AFK-03, проявляли больше сходства внутри популяций и обнаруживали большее число совпадений между популяциями. Одуванчик лекарственный, произрастающий на высоте 875 м н. у. м., филогенетически был ближе к популяции одуванчиков предгорий озера Казеной-Ам (высота 2175 м н. у. м.). Вместе с тем, между растениями географически близких (высота 875 м н. у. м. и высота 950 м н. у. м.) однозначного сходства в RAPD-спектрах не обнаруживалось. Дендрограмма, построенная на основе полиморфизма RAPD, разделила образцы одуванчика на два отдельных кластера с вариацией 82%. Таким образом, результаты исследования показали, что RAPD маркеры позволяют дифференцировать популяции, что делает возможным использования данного метода для популяционной идентификации генотипов.

[1] Babu K. N. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) and Derived Techniques / Babu K. N., Sheeja T. E., Minoos D. et al. // Methods Mol Biol. 2021; 2222:219–247. doi: 10.1007/978-1-0716-0997-2_13.



Сравнение уровня идентификационной информативности двух аутосомных тест-систем при определении сложных случаев родства в популяциях коренных народов Российской Федерации

К. В. Вагайцева¹, М. Е. Лопаткина¹, Н. А. Колесников¹, М. Д. Скалин², В. Н. Харьков¹, Л. В. Валихова¹,
И. А. Волкова¹, В. А. Степанов¹

¹ Научно-исследовательский институт медицинской генетики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова
Российской академии наук

vagaitzeva.xenia@yandex.ru

Вариация уровня генетического разнообразия в популяциях, связанная с различными генетико-демографическими процессами, напрямую влияет на надежность генетической экспертизы в криминалистике. Вероятность ложноположительного результата при определении родственных отношений в сложных случаях (установление родства между индивидом и одним предполагаемым родителем (дуо), установление родства между предполагаемыми братьями/сестрами, бабушками/дедушками и внуками и т. д.) в популяциях с низким уровнем генетического разнообразия возрастает [1–3].

Для того чтобы оценить, достаточно ли информативны наборы аутосомных STR для экспертизы на родство в высокоинбредных популяциях России, мы провели оценку величины отношения правдоподобия (LR) для нескольких тысяч сгенерированных на основе популяционных данных случаев в популяции русских и нескольких коренных народов Сибири. В работе использовалось два мультиплексных набора. Мультиплекс COGrDIS ЭКСПЕРТ 26 (Gordiz, Россия), включающий стандартные для ДНК-идентификации аутосомные STR-маркеры и разрабатываемый нами набор нестандартных для ДНК-идентификации аутосомных STR: D20S1082, D6S474, D12ATA63, D4S2366, D1S1677, D11S4463, D14S1434, D9S1122, D2S1776, D10S1435, D3S3053, D17S974, D17S1301, D8S1132, Penta D, D21S2050, D1S1627, D3S4529, D2S1360, D3S1744, D9S2157, D10S2325, D7S1517, Penta E. Расчеты проводили согласно методическим указаниям ЭКЦ МВД [4]. Все программы, используемые для моделирования и расчетов, были написаны на языке Python.

В результате расчетов было показано снижение уровня идентификационной информативности в популяциях коренных народов Сибири при определении сложных случаев родства. Надежность генетической экспертизы, проводимой с использованием анализируемых в данной работе наборов маркеров эквивалентна, а совместное их использование уменьшает вероятность ложноположительного результата.

- [1] Rohlfs R. V., Fullerton S. M., Weir B. S. Familial identification: population structure and relationship distinguishability // PLoS Genet — 2012. — Vol. 8, No. 2. С. e1002469.
- [2] Zvenigorosky V., Sabbagh A., Gonzalez A, Fausser J. L. et al. The limitations of kinship determinations using STR data in ill-defined populations // Int J Legal Med. — 2020. — Vol. 134, No. 6. P. 1981–1990.
- [3] Вагайцева К. В., Колесников Н. А., Скалин М. Д., Харьков В. Н., Раджабов М. О., Степанов В. А. Генетическое разнообразие и идентификационная информативность 43 аутосомных STR-маркеров в популяциях аварцев // Медицинская генетика. 2023. Т. 22. № 12. С. 52–58.
- [4] Экспертная оценка и вероятностно-статистическая обработка результатов исследования ДНК при установлении биологического родства / А. Ю. Культин — М.: ЭКЦ МВД России, 2011. — 132 с.



Хромосомный полиморфизм периферийных популяций малярийных комаров и расширение границ видовых ареалов на территории Карелии

М.И. Гордеев¹, А.Г. Бега^{1,3}, В.И. Панов¹, В.П. Перевозкин², А.В. Москаев¹

¹ Государственный университет просвещения_Мытищи

² Томский государственный педагогический университет_Томск

³ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН_Москва

gordeev_mikhail@mail.ru

Периферические популяции рассматриваются как эволюционные форпосты вида, в которых происходит перестройка экологической и генетической структуры, наблюдаются резкие флуктуации популяционных параметров, возникают временные изоляты, сокращается обмен генами и создаются предпосылки для быстрого обновления генофонда. Определяли хромосомную изменчивость в популяциях малярийных комаров рода *Anopheles* (Diptera, Culicidae), обитающих на территории Карелии. Установлены современные северные границы ареалов видов-двойников малярийных комаров *An. beklemishevi*, *An. daciae*, *An. messeae* s. s. и *An. maculipennis*. Граница распространения малярийных комаров с 2010 по 2022 гг. сместилась на север на 170 км, от 65 параллели до Северного полярного круга. Самое северное местообитание комаров *An. maculipennis* выявлено нами в г. Кемь. В 70-е годы XX века северная граница ареала этого вида значительно южнее г. Петрозаводска. В настоящее время виды *An. maculipennis* и *An. daciae* распространились до границы северной тайги, где обитают хромосомно полиморфные виды *An. beklemishevi* и *An. messeae* s. s. Хромосомные перестройки в крайних популяциях этих полиморфных видов встречаются преимущественно в гетерозиготах. В периферийных популяциях *An. beklemishevi* найдены гетерозиготы по инверсиям XL1, XL2, 2R2, 3R1, 3R5. Периферийные популяции *An. messeae* s. s. гомозиготны по инверсии половой хромосомы XL1 и отличались от популяций средней тайги по частотам инверсий аутосом. В популяции на краю видового ареала увеличилась частота гетерозигот по аутосомным инверсиям 2R1, 3R1 и 3L1. Очевидно, гетерозиготность по хромосомным инверсиям поддерживается стабилизирующим отбором и способствует сохранению изменчивости на периферии видового ареала. Хромосомная изменчивость периферийных популяций способствует расселению малярийных комаров в высоких широтах в условиях потепления климата.

Исследование выполнено за счет гранта РФФИ № 22-24-00183 «Хромосомный полиморфизм в популяциях видов-двойников малярийных комаров таежной зоны Евразии», <https://rscf.ru/project/22-24-00183/>.



Особенности генетико-демографических процессов в населении Москвы и Санкт-Петербурга

А. С. Грачева¹, И. Г. Удина¹, О. Л. Курбатова¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова
Российской академии наук, Москва

palesa@yandex.ru

Для понимания основных тенденций динамики генофонда популяций крупнейших мегаполисов России — Москвы и Санкт-Петербурга — проанализированы генетико-демографические характеристики населения этих мегаполисов. Смешанное население мегаполиса следует рассматривать как особую, новую, в историческом плане, модель популяционной структуры. Расчеты параметров генетико-демографических процессов проведены на основе данных анкетирования жителей исследуемых городов, а также материалов Всероссийской переписи населения и демографической статистики Росстата. Данные анкетирования содержат сведения о дате и месте рождения, национальности (по самоидентификации) анкетированных лиц и их предков в двух предшествующих поколениях и сформированы в две соответствующие базы данных. Для населения Москвы основные генетико-демографические характеристики рассчитаны для двух разновозрастных выборок — «старшей» (1914–1984 гг. рожд.) и «младшей» (2017 гг. рожд., анкетирование было проведено у их матерей: 1974–2001 гг. рожд.), для населения Санкт-Петербурга (1925–1994 гг. рожд.). Рассчитаны генетические параметры миграции: коэффициент миграции (m) и миграционное расстояние (R — радиус миграции — важный показатель области миграционного притяжения мегаполиса). Коэффициент миграции является основным показателем интенсивности миграции: позволяет оценить скорость замены генофонда популяции под воздействием миграционных процессов. В «старшей» возрастной группе жителей Москвы коэффициент миграции ($m = 0.485$) ниже, чем в «младшей» возрастной группе ($m = 0.649$), а в Санкт-Петербурге ($m = 0.356$) ниже, чем в обеих выборках населения Москвы. Изучены параметры брачной структуры. Брачное расстояние (расстояние между местами рождения супругов) — генетический параметр, отражающий степень генетических различий между брачными партнерами, а, следовательно, и уровень аутбридинга. В «младшей» возрастной группе населения Москвы среднее брачное расстояние в 2.5 раза больше, чем в «старшей», а в Санкт-Петербурге этот параметр имеет промежуточное значение. Индекс экзогамии показывает степень аутбридинга и генетического разнообразия «коренного» населения мегаполисов. В «старшей» возрастной группе населения Москвы средний уровень экзогамии 0.95 ± 0.09 ($\sigma = 1.31$), в «младшей» — в 2 раза выше 2.15 ± 0.11 ($\sigma = 1.46$), что свидетельствует о расширении масштабов аутбридинга в Москве. В группе анкетированных Санкт-Петербурга средний уровень экзогамии равен 1.25 ± 0.08 ($\sigma = 1.25$), что немногим выше, чем в «старшей» возрастной группе москвичей. Рассчитаны генетико-демографические параметры временной и межэтнической изменчивости естественного воспроизводства и параметры отбора (индексы Кроу) для наиболее многочисленных этнических групп изучаемых мегаполисов. Отмечено значительное снижение компоненты отбора, обусловленной дифференциальной дорепродуктивной смертностью (индекс $I_m < 0.01$). Компонента отбора, обусловленная дифференциальной плодовитостью (индекс I_f), в Москве варьируют на уровне 0.33–0.42, в Петербурге — в пределах 0.35–0.43, что связано с относительной стабилизацией межсезонной дисперсии плодовитости. Проанализирован уровень подразделенности популяции по этническому признаку, построены карты, отражающие «этническую топографию» города, которые показали неравномерное расселение отдельных этнических групп по территории изученных мегаполисов. Таким образом, проведенный анализ основных генетико-демографических характеристик выявил важнейшие отличительные особенности двух городов-мегаполисов и продемонстрировал специфические особенности происходящих в них генетико-демографических процессов.



Влияние циркадного стресса у растений *Arabidopsis thaliana* на экспрессию *CCA1* — одного из ключевых генов циркадной сети

М.В. Зарецкая¹, О.М. Федоренко¹

¹ Институт биологии Карельского научного центра Российской академии наук, Петрозаводск, 185910 Россия
genmg@mail.ru

Одним из важнейших механизмов, участвующих в адаптации растений к условиям окружающей среды, наряду со временем цветения и сроками прорастания семян, являются циркадные ритмы. Несмотря на связь с внешними стимулами, циркадные ритмы имеют эндогенное происхождение, представляя, таким образом, биологические часы организма. Точно синхронизированные с продолжительностью дня, биологические часы способствуют общей приспособленности растений.

В связи с этим, с целью определения реакции на циркадный стресс, изучена динамика транскрипционной активности одного из ключевых генов циркадной сети — *CCA1* в условиях естественного светового периода, характерного для периода вегетации (16L:8D; день с 6 ч, ночь с 22 ч) и при инвертированном световом периоде (8D:16L; ночь с 9 ч, день с 17 ч) у растений *A. thaliana* северных природных популяций (Карелия).

Показано, что в условиях циркадного стресса, когда свет включался в вечернее время (с 17 ч), происходит сдвиг фазы в циркадном ритме этого гена по сравнению с естественным световым периодом: время максимальной экспрессии *CCA1* (фаза) регистрировалось в более поздние сроки со сдвигом на 2 часа. При этом наблюдался резкий «скачок» экспрессии гена — максимальный уровень транскриптов *CCA1* оказался примерно в два раза выше. В инвертированных световых условиях в утреннее время (с 6 ч), эндогенный ритм циркадных часов сохранялся, но примерно в два раза с меньшей амплитудой по сравнению с естественным световым периодом. Таким образом, транскрипционная активность *CCA1* в необычных, инвертированных световых условиях происходила два раза в сутки: первый раз — это необычайно высокая реакция на световой стимул в вечернее время (в 17 ч) со сдвигом фазы на 2 часа, а второй — сохранение эндогенного циркадного ритма, который происходил в соответствии с природными световыми геофизическими условиями — в 6 часов.

Полученные результаты позволяют заключить, что, вероятно, циркадные ритмы *A. thaliana* северных природных популяций играют роль в адаптации к изменению световых условий. В этом процессе, очевидно, важную роль имеет изменение экспрессии одного из ключевых генов циркадной сети — *CCA1*.



Межпоколенная трансформация популяционно-генетической структуры татар Сибири: изонимный подход

Д.О. Имекина¹, М.В. Ульянова¹, З.А. Тычинских², М.Б. Лавряшина¹

¹ ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Кемерово

² Тобольская комплексная научная станция УрО РАН, Тобольск
dolinina_1993@mail.ru

Изучение фонда фамилий позволяет анализировать популяционно-генетические показатели и их изменчивость на больших выборках, а также оценивать межпоколенную трансформацию генетической структуры популяций.

Целью исследования стало изучение и сопоставление фамильного состава в трех поколениях локальных групп татар Сибири для оценки трансформации популяционной структуры, а также выявления связей различных групп татар и межэтнических контактов с другими народами.

Источником информации для формирования баз данных о фондах фамилий татар в местах расселения этнографических групп послужили книги похозяйственного учета сельского населения. Обследованы территории девяти сельских поселений, входящих в ареал искеро-тобольских, иштякско-токузских, саргато-утузских и татар-бухарцев. Фамилии собирались тотально за три временных отрезка 1950-е, 1980-е и 2010-е гг., что соответствует трем поколениям. Суммарный объем обследованных групп татар составил 18630 человек с фондом фамилий более 1150 вариантов. На основе частот фамилий проанализированы генетические дистанции между поколениями внутри отдельных этнографических групп для оценки процессов трансформации фонда фамилий за три поколения. Также был проведен анализ генетических расстояний между исследованными этнографическими группами с целью выявления контактов — обмена фамилиями через возможные брачные миграции, а также динамики этого процесса.

Исследование показало, что фамильный состав обследованных групп обладает своеобразием, особенно в части наиболее распространенных фамильных вариантов. Общие фамилии, встречающиеся во всех исследованных группах татар, фиксируются редко и варьируют в исследованном временном интервале в диапазоне от 2,2 до 2,6% в общей структуре фамилий. Анализ генетических расстояний между поколениями изученных этнографических групп татар Западной Сибири показал, что за три поколения (1952–2019 гг.) наибольшая трансформация фонда фамилий произошла у татар саргато-утузской и иштякско-токузской групп. Относительное постоянство фамильного состава отмечено у искеро-тобольских татар.

Результаты осуществленного исследования свидетельствуют об эффективности применения фамилий татар Сибири как инструмента исследования структуры их популяций не только для фиксации трансформаций, но и для понимания их причин. В целом исследование выявило специфику демографического развития локальных групп татар Сибири, которое хорошо согласуется с географией расположения их этнических ареалов в пределах контактных зон и подтверждает перспективность применения фамилий для решения задач популяционной генетики.



Гаплотипы локуса *tRNA^{Leu}-COII* мтДНК в популяциях *Apis mellifera* на территории России

М.Д. Каскинова¹

¹ Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук
kaskinovamilyausha@mail.ru

Ареал медоносной пчелы *Apis mellifera* охватывает Европу, Африку, Ближний Восток и некоторые части Азии. Разные климатические условия привели к формированию более 30 подвидов медоносной пчелы. На основе морфометрических различий эти подвиды были изначально разделены на четыре эволюционные ветви: африканскую (А), западно- и североευропейскую (М), восточноевропейскую (С) и западно- и центрально азиатскую (О). Для дифференциации эволюционных ветвей используется анализ полиморфизма локуса *tRNA^{Leu}-COII* (или *COI-COII*). Этот межгенный локус представляет собой не кодирующую последовательность, состоящую из части гена *tRNA^{Leu}*, элементов, условно обозначенных как Р и Q, и части гена *COII*. Подвиды эволюционной ветви М характеризуются вариантом Р(Q)1 – n. У представителей эволюционной ветви С элемент Р отсутствует, а локус представлен частью гена *tRNA^{Leu}*, одним Q-элементом и частью гена *COII*.

В этом исследовании мы выяснили, какие гаплотипы локуса *tRNA^{Leu}-COII* распространены в российских популяциях медоносных пчел. Материалом для исследования послужили выборки медоносных пчел *A. mellifera* из 29 регионов России (335 семьи), а также из Узбекистана, Казахстана, Белоруссии и Литвы (28 семей). Последовательности *tRNA^{Leu}-COII* были депонированы в Genbank под номерами OR761847-OR76187. В результате установлено, что 228 изученных семей принадлежат к эволюционной ветви М, а 135 — к ветви С. На территории России нами выявлены две разные популяционные группы темной лесной пчелы — одна из них принадлежит к гаплогруппе М17, другая — к М4'. Гаплогруппа М4' доминирует у европейских *A. m. mellifera* и *A. m. iberiensis*. Тогда как гаплогруппа М17 редко встречается в европейских популяциях темной лесной пчелы. Также были выявлены три семьи с гаплотипом М79b в Иглинском районе, Республики Башкортостан. Нами были идентифицированы семь уже известных гаплотипов С: С1, С2, С2с, С2j, С2ja, С2l, С3 и шесть новых гаплотипов, которые были названы С2i2, С2jf, С2jd, С2je, С1j, С4а.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-74-00004 (<https://rscf.ru/project/22-74-00004/>) с использованием ресурсов ЦКП УФИЦ РАН.



Разорванный ареал криптического вида теребеллид: связь между Белым и Северным морями

А. А. Кудрявцева¹, У. С. Новоятлова¹, А. Г. Кесенних², Д. Р. Гаева³, А. В. Власов¹, И. В. Манухов¹

¹ МФТИ, Долгопрудный

² Росбиотех, Москва

³ Институт океанологии им. П. П. Ширшова РАН, Москва

kessenikh.ag@mipt.ru

Род *Terebellides* Sars, 1835 (Annelida) и его первый представитель *Terebellides stroemi* был открыт в 1835 году (Sars M). *T. stroemi* считается видом-космополитом: его представители широко распространены на Атлантическом побережье Северной Америки, Европы и Африки, Баренцевом, Охотском и Черном, и Средиземном морях. Однако последующие исследования существенно изменили понимание видового разнообразия, скрытого внутри представителей этого рода в европейских водах. В настоящее время согласно WoRMS (<https://www.marinespecies.org/>) к роду теребеллид относят 86 описанных видов.

В 2018 году коллектив шведских ученых на основе анализа более 500 образцов теребеллид представил новую классификацию группы *Terebellides*, обитающих в северной Атлантике, согласно которой имеется некоторое количество криптических видов, внутри описанных ранее [1].

В нашей работе мы решили дополнить филогенетическое дерево, полученное шведскими коллегами, образцами из Белого моря. Образцы теребеллид собирали в июле 2021 и 2023 годов в ходе молодежной образовательной экспедиции «Полярный Круг». Для генетического анализа были определены последовательности четырех генов, COI, 16S рРНК, ITS2, 28S рРНК, нескольких представителей рода теребеллид, обитающих близ о. Оленевский, Чернореченской губы, Белого моря (66.52064°, 33.113101°).

На основе выравнивая объединённых (слитых) последовательностей ДНК генов COI, 16S рРНК, ITS2, 28S рРНК для образцов, полученных нами, и для образцов, имеющихся в базе данных, был проведен филогенетический анализ. Образцы с Белого моря кластеризовались с таковыми «клады 4» (до настоящего времени неопределённый криптический вид), обитающими только в проливах Каттегат и Скагеррак между Северным и Балтийским морями. Таким образом мы зафиксировали разобщенность ареала «Клады 4»: ее представители не встречаются ни в Баренцевом, ни в Норвежском море [2].

Полученные нами данные позволяют сделать интересные заключения о возможных причинах показанной разобщенности ареала. Полихеты на норвежском побережье могут быть зависимы от сукцессионных процессов, например, от привнесения новых видов посредством Гольфстрима. Такие дистальные же местообитания, как Белое или Северное море, по-видимому, менее подвержены влиянию течения Гольфстрим. Кроме того, проливы Каттегат, Скагеррак и Чернореченская губа могут иметь и другие сходные особенности, важные для полихет, например, периодические колебания солёности.

[1] Nygren, A. et al. A mega-cryptic species complex hidden among one of the most common annelids in the north east Atlantic. *PLoS One* **13**, (2018).

[2] Kudryavtseva A. A., et al. Disjunct habitat of cryptic *Terebellides* (Annelida, Trichobranchidae) species shows a phylogenetic link between polychaetes from the White and the North Seas. *Sci Rep.* 2023;13(1):22926. doi:10.1038/s41598-023-49785-9.

Работа поддержана Минобрнауки России (проект FSMF-2023-0010).



Определение частоты гетерозиготного носительства наследственной моторно-сенсорной нейропатии 6С типа в якутской популяции

А.А. Максимова¹, А.Л. Сухомясова², Н.Р. Максимова¹

¹ Научно-исследовательская лаборатория «Молекулярная медицина и генетика человека» МИ СВФУ
им. М.К. Аммосова, Якутск

² Медико-генетический центр РБ№ 1 – НЦМ, Якутск
nastushalensk@mail.ru

Введение. Наследственная моторная и сенсорная нейропатия типа 6С с атрофией зрительного нерва (НМСН6С) — аутосомно-рецессивная аксональная сенсомоторная периферическая нейропатия, характеризующаяся прогрессирующей дистальной мышечной слабостью и атрофией, преимущественно поражающей нижние конечности. У людей обычно наблюдаются полая стопа, молоткообразные пальцы ног и атрофия внутренних мышц рук. Кроме того, в зрелом возрасте наблюдается прогрессирующая атрофия зрительного нерва и нарушение зрения. Болезнь ассоциирована с мутацией в 21 хромосоме гена PDXK. В мире известно 6 пациентов из 3 неродственных семей, которые страдают наследственной моторно-сенсорной нейропатией 6С типа [1, 2]. Ранее нами было выявлено 50 больных из 44 неродственных семей в Республике Саха (Якутия) у которых обнаружили патогенный вариант с. 659G > A в гене PDXK в гомозиготном состоянии. В отечественной литературе еще не описано пациентов с НМСН 6С типа.

Цель: определение частоты гетерозиготного носительства наследственной моторно-сенсорной нейропатии 6С типа у здоровых индивидов якутской этнической группы.

Материалы и методы. Популяционная выборка из здоровых лиц составила 96 человек (мужчин — 46, женщин — 50). Использовали метод ПЦР в реальном времени с флуоресцентными зондами на базе научно-исследовательской лаборатории «Молекулярная медицина и генетика человека».

Результаты. Исследованы образцы ДНК (n=96) здоровых людей из неродственных семей якутской этнической группы. В результате проведенного анализа было выявлено гетерозиготное носительство у 3 человек из 96, что составило — 3,1%.

Заключение. Полученные результаты демонстрируют высокую частоту гетерозиготного носительства (3,1%), что свидетельствует о необходимости проведения профилактики путем внедрения молекулярно-генетического скрининга населения, в первую очередь пренатального скрининга в отягощенных семьях.

- [1] Chelban V., Wilson M. P., Warman C. J. et. al. PDXK mutations cause polyneuropathy responsive to pyridoxal 5'-phosphate supplementation // Ann Neurol. — 2019. — Vol. 86. — № 2. — P. 225–240.
- [2] Keller N., Mendoza-Ferreira N., Maroofian R. et. al. Hereditary polyneuropathy with optic atrophy due to PDXK variant leading to impaired Vitamin B6 metabolism // Neuromuscul Disord. — 2020. — Vol. 30. — № 7. — P. 583–589.



Генетическая структура популяций криптических видов малярийных комаров Полесья и сопредельных территорий

А.В. Москаев¹, Е.Ю. Ли¹, Д.Н. Логинов², А.Г. Бега^{1,3}, В.И. Панов¹, А.А. Темников¹, А.П. Белкова¹,
Л.С. Бородин¹, Б.В. Андрианов³, И.И. Горячева^{1,3}, М.И. Гордеев¹

¹ Государственный университет просвещения, Мытищи

² ГНПО «НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам», Минск

³ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва

anton-moskaev@yandex.ru

Важную роль в процессе эволюции и адаптации популяций комаров рода *Anopheles* (Diptera, Culicidae) выполняет генетическая изменчивость. Потепление, трансформация ландшафтов и изменение флористического состава, а также антропогенная нагрузка влияют на состав и уровень хромосомной изменчивости в популяциях полиморфных видов комаров. Среди малярийных комаров Палеарктики последней по времени произошла дивергенция криптических видов с перекрывающимся полиморфизмом — *An. messeae* s. s. и *An. daciae*. На территории Российского и Белорусского Полесья проходит зона симпатрии этих видов и южная граница распространения *An. messeae*.

Для изучения хромосомной изменчивости была собрана и обработана 31 выборка личинок комаров рода *Anopheles*. Для определения состава и частот инверсий готовили препараты политенных хромосом по лактоацеторсеиновой методике. Видовую принадлежность криптических видов *An. messeae* s. s. и *An. daciae* определяли с помощью однонуклеотидных вариантов в ITS2 фрагменте рибосомальной ДНК. Оценивали меж- и внутригрупповую изменчивость.

В популяциях видов-двойников *An. messeae* s.l. выявлен хромосомный полиморфизм по ряду инверсионных вариантов половой хромосомы и аутосом: XL₀ (2a-5b), XL₃ (2a-3a/b), XL₄ (1d/2a-3b), XL₈ (|2a-5b|-|1c/d-2c|), XL₉ (1c/d-4a), 2R₁ (7b/c-12c/13a), 2R₆ (9a/b-11a/b), 3R₁ (23c/24a-26c/27a), 3R₁₀ (|23c/24a-26c/27a|-|25c-26c/27a|), 3L₁ (|34b/c-38c/39a|-|37a/b-39c/d|), 3L₇ (33b/c-36b/c). Сравнение частот инверсионных вариантов методом Хи-квадрат и попарных значений FST показало, что изученные популяции можно с высокой степенью достоверности отнести к группам, кластеризующимся в соответствии с зонально-секторным распределением ландшафтов. Показаны значимые различия между выборками из зоны широколиственных лесов Полесья и территорий подтаежной зоны. Установлено, что выборки из Полесья можно разбить на две группы, различающиеся по частотам инверсий половой хромосомы: Западное Полесье и Восточное Полесье. Показаны различия хромосомного состава популяций в зависимости от уровня урбанизации.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РЦНИ(РФФИ) и БРФФИ в рамках научного проекта № 20-54-04017 (БРФФИ-РФФИ М — 2021 № Б21РМ-123).



Анализ генетического разнообразия азовской севрюги (*Acipenser stellatus*) в условиях ее низкой численности популяции

Н.А. Небесихина¹

¹ Азово-Черноморский филиал ФГБНУ «ВНИРО», г. Ростов-на-Дону
nebesihinana@azniirkh.vniro.ru

Севрюга (*Acipenser stellatus*, Pallas, 1771) — некогда ценный промысловый вид Понто-Каспийского бассейна. Начиная с середины XX века, активная антропогенная нагрузка и изменение гидрологических условий нерестовых рек привели к резкому снижению численности популяции. К началу 1970-х годов промысловый запас севрюги азовской популяции был восстановлен за счет искусственного воспроизводства молоди на осетровых рыбоводных заводах. Но процветавшее в 1990-х годах браконьерство привело к снижению запаса и закрытию в 2000 г. промысла севрюги в бассейне Азовского моря. В условиях дефицита «диких» производителей севрюги для воспроизводственных целей большинство осетровых рыбоводных предприятий пошло по пути создания собственных ремонтно-маточных стад (РМС), формирование которых в основном осуществлялось стихийно по принципу доступности и без учета генетической составляющей. Учитывая особенности биологии вида, начиная с 2015 г., в рыбоводном процессе используют производителей севрюги, выращенных на ОРЗ от «икры». Пополнение природной популяции азовской севрюги осуществляется в настоящее время за счет молоди, полученной от производителей из РМС, на 3 осетровых рыбоводных заводах ФГБУ «Главрыбвод».

Целью исследований является оценка генетического разнообразия азовской севрюги природной популяции на основе STR маркеров и варибельного участка митохондриальной ДНК (D-loop).

Для STR-анализа были взяты образцы геномной ДНК 221 экз. разновозрастных особей севрюги, отобранные в ходе научно-исследовательских рейсов в бассейне Азовского моря в период 2018–2023 гг. При выделении ДНК использован коммерческий набор «Экстран-2». Микросателлитный анализ проведен по 5 STR-локусам (Afug41, Afug51, An20, AoxD161, AoxD165). У 77 экз. севрюги определено 13 митохондриальных гаплотипов по D-Loop.

В процессе исследования отмечено в среднем 12 аллелей на локус и 4,9 эффективных аллелей. Число аллельных вариантов на локус колебалось от 8 (AoxD161) до 17 (AoxD165) с частотой встречаемости 0,011–0,573. Суммарно было идентифицировано 60 аллелей. Наибольший размерный диапазон был характерен для локуса An20 (129–197 пн), наименьший — для локуса AoxD161 (114–138 пн). В среднем уровень наблюдаемой гетерозиготности ($H_o = 0,743$) и ожидаемой гетерозиготности ($H_e = 0,766$), что указывает на некоторое снижение генетического разнообразия.

В исследованной выборке севрюги отмечен умеренный уровень полиморфизма варибельного участка D-Loop (699 пн). Всего выявлено 13 гаплотипов, которые определяются вариацией 60 позиций. Количество синглетонных сайтов составило 38, парсимоничных — 22 и 15 вариантов делеций. Генетическое разнообразие севрюги характеризуется высоким гаплотипическим ($1,000 \pm 0,074$) и высоким нуклеотидным разнообразием (0,02827). В исследуемой выборке севрюги у 80,6% рыб отмечены 3 митохондриальных гаплотипа: STE_Nар83, STE_Nар4 и STE_Nар20. Доминирующим гаплотипом является STE_Nар83, который отмечен у 44,2% рыб. Остальные 10 митохондриальных гаплотипа встречены у единичных особей.

Таким образом, в настоящее время природная популяция азовской севрюги проявляет умеренный уровень генетического разнообразия, и грамотное ведение работ по восстановлению ее численности позволит возобновить промысел данного вида.



Возраст мутации мукополисахаридоз-плюс синдрома в Республике Саха (Якутия)

С.Н. Новгородова¹, Н.Р. Максимова¹, А.Л. Сухомясова²

¹ ФГАОУ ВО «Северо-Восточный Федеральный университет им. М.К. Аммосова»

² ФГАОУ ВО «Северо-Восточный Федеральный университет им. М.К. Аммосова», ГАУ РС(Я) «РБ № 1-НЦМ им. М.Е. Николаева»

vsaina@yandex.ru

Якутское население является гомогенной популяцией, из-за этого можно часто наблюдать накопление наследственных заболеваний из-за «эффекта основателя». Для большинства изученных генетических заболеваний в якутской популяции определен «возраст» распространения мажорных мутаций. Одним из таких заболеваний является мукополисахаридоз-плюс синдром (МПС-ПС), вызываемый мутацией в гене *VPS33A*. У пациентов с этим заболеванием наблюдаются различные симптомы, включая грубые черты лица, скелетные аномалии, поражение сердца и задержка в психомоторном развитии. Заболевание имеет неблагоприятный прогноз, и большинство пациентов умирают в младенческом возрасте. В мире зарегистрировано 21 случай заболевания, преимущественно в Якутии. Учитывая одинаковую мутацию в гене *VPS33A* у всех пациентов из Якутии, можно предположить, что эта мутация могла распространиться в результате «эффекта основателя». Целью работы является реконструкция гаплотипа основателя, оценка возраста мутации и определение частоты гетерозиготного носительства мутации в гене *VPS33A*, вызывающей мукополисахаридоз-плюс синдром в популяции Якутии.

Проведены популяционные исследования частоты гетерозиготного носительства мутации *c. 1492C > T* в гене *VPS33A* среди коренных народов Сибири и Дальнего Востока на 1086 образцах крови. У якутов составило 1,6% от обследованных. Дополнительный анализ в географически близких популяциях не выявил мутацию *c. 1492C > T* у народов Дальнего Востока и Сибири.

Реконструкция гаплотипа основателя была проведена на 15 пациентах с МПС-ПС и 50 индивидуумах контрольной группы. Гаплотип *D12S385(2)-D12S321(5)-D12S2073(3)-D12S1349(7)-D12S195(4)-D12S1603(2)-D12S1612(2)-D12S1614(3)-D12S342(7)* возможно является остатком гаплотипа-основателя, что может быть причиной МПС-ПС. Среднее количество поколений, прошедших после начала распространения мутации *c. 1492C > T* в якутской популяции, составило 159,8. Возраст мутации *c. 1492C > T* в якутской популяции оценивается в $3997 \pm 174,5$ лет. Это связано с доэтническим периодом. Полученные данные совпадают с ранее исследованными результатами возраста распространения мутации окулофарингеальной мышечной дистрофии и миотонической дистрофии 1 типа, которые также относятся к доэтническому периоду.



Барабинско-туражские сибирские татары: особенности генофонда по данным изучения Y-хромосомы

А.Д. Падюкова¹, Д.О. Имекина¹, М.В. Ульянова¹, М.Б. Лавряшина¹

¹ ФГБОУ ВО Кемеровский Государственный Медицинский Университет Минздрава России, Кемерово
enikeeva.as@rambler.ru

Генофонд коренного населения Сибири — сибирских татар — гетерогенен, что определяется участием в его формировании разных по времени и истокам миграционных потоков вследствие широкой территории расселения (от Урала до Енисея). По этнотерриториальному признаку выделяют три основных группы сибирских татар — тоболо-иртышскую, томскую, барабинскую. Последняя представлена коренным тюркоязычным населением междуречья Оби и Иртыша. В составе барабинских татар выделяют барабинско-туражскую, любейско-тунусскую и теренинско-чойскую подгруппы. Географически барабинские татары занимают промежуточное положение между этническим ареалом популяций тоболо-иртышских и томских татар. В формировании этой группы принимали участие как угорские, так и тюрские народы, а на современном этапе — народы восточнославянской группы, преимущественно русские.

Целью проведенного исследования стало составление «генетического портрета» барабинских татар барабинско-туражской группы по данным Y-хромосомы. Материалом послужили 76 образцов ДНК, выделенных методом фенол-хлороформной экстракции из биологических материалов, полученных от представителей данной группы, обследованной в экспедициях 2017–2018 гг. в местах компактного расселения в Новосибирской области. Генотипирование проводили по 50 SNP-маркерам и 17 STR маркерам.

На данный момент завершаются исследования по расширенной панели из 46 маркеров YSTR, что позволит более детально проанализировать гаплотипы внутри гаплогрупп и провести оценку возраста генерации наблюдаемого разнообразия. Полученные на настоящий момент результаты свидетельствуют об уникальности популяционно-генетической структуры барабинско-туражских татар. Их генофонд сформирован 14 гаплогруппами Y-хромосомы, 11 из которых встречаются с частотой менее 3%. Мажорными на данный момент являются гаплогруппы Q-M242 и N1-CTS11499. Их суммарная частота превышает 50%. Эти гаплогруппы широко распространены на территории Сибири. Они с высокой частотой встречаются у селькупов, кетов, алтайцев, тубаларов, а также у якутов, восточных бурят, хантов, манси, лесных ненцев и хакасов. Гаплогруппа R1a1a-M198 по распространенности в генофонде занимает у барабинско-туражских татар третье место. В целом данная гаплогруппа также имеет широкий ареал распространения: восточная Европа, южная Сибирь, центральная Азия и северная Индия. Сравнительное изучение показало, что выявленные у барабинско-туражских татар гаплогруппы Q, N1 и R1a1a также регистрируются в генофондах тоболо-иртышских и томских татар. Однако их распространенность по данным о частотах варьирует.

Таким образом, проведенное исследование подтверждает своеобразие генетической структуры исследованной группы. В настоящее время работа в данном направлении продолжается.



Генетический полиморфизм популяций *Chondrilla* Европейской России и прилегающих территорий в связи с особенностями системы семенного размножения

А.С. Пархоменко¹, Т.А. Крицкая¹, А.С. Кашин¹

¹ ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский
государственный университет им. Н.Г. Чернышевского», Саратов

parkhomenko_as@mail.ru

Виды *Chondrilla* (Asteraceae) плохо изучены. Анализ их изменчивости (Маевский, 2014) позволит снять ряд проблемных вопросов по таксономической структуре рода.

Исследованы особенности системы семенного размножения и генетическое разнообразие в 62 популяциях 9 таксонов (*C. acantholepis* Boiss., *C. ambigua* Fisc., *C. brevirostris* Fisc. et Mey, *C. canescens* Kat. et Kir., *C. graminea* Bieb., *C. juncea* L., *C. laticoronata* Leonova, *C. latifolia* Bieb. и *C. pauciflora* Ledeb.) Европейской России и прилегающих территорий. Облигатно амфимиктично воспроизводится только *C. ambigua*. Остальным таксонам свойственен факультативный автономный апомиксис. В качестве маркеров использовали регион *trnT-trnF* пластидной ДНК, межгенный транскрибируемый рибосомальный спейсер (ITS 1 и 2) ядерной ДНК и ядерные ISSR маркеры.

Реконструкции эволюционных сетей позволили разделить исследованную выборку на 4 группы: 1) *C. ambigua* и *C. pauciflora*, 2) *C. brevirostris*, 3) *C. laticoronata*, 4) *C. acantholepis*, *C. canescens*, *C. graminea*, *C. juncea* и *C. latifolia*. *C. acantholepis*, *C. canescens*, *C. graminea*, *C. juncea* и *C. latifolia* следует считать синонимами (подвидами) с приоритетным названием *C. juncea*. *C. ambigua* должна рассматриваться как вид, включая *C. pauciflora* как триплоидный цитотип.

C. ambigua является корневой в исследованной группе таксонов, а *C. brevirostris* и *C. laticoronata* — эволюционно более древними группами по сравнению с другими таксонами подрода *Chondrilla*. Последние являются продуктами симпатрического образования *C. brevirostris* и *C. laticoronata*, могут происходить от *C. ambigua* путем гибридизации с некоторыми невыбранными для анализа ISSR видами после образования стабильных, преимущественно апомиктических клонов. Они могли возникнуть из двух независимых событий гибридизации в прошлом. Совпадение пластидных гаплотипов между тремя видами указывает на то, что *C. ambigua* является материнским родителем в обоих случаях. Мы полагаем, что мужскими родителями в этих гибридизациях были два различных таксона от подрода *Chondrilla*. Исследование размеров генома методом проточной цитометрии и особенностей морфологии хромосом методами флуорисцентной микроскопии в целом приводит к тем же заключениям.



Молекулярные подходы к идентификации видов и гибридов *Spiraea* (Rosaceae) на популяционном уровне

Т.А. Полякова¹

¹ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва
tat-polyakova@yandex.ru

Естественная гибридизация является важным механизмом в эволюции растений, приводящим к образованию новых видов и увеличению генетического разнообразия. Сочетание различных геномов у гибридов часто имеет широкие эволюционные и экологические последствия, связанные с усилением их адаптивного потенциала.

Традиционная видоидентификация *Spiraea* L. основана главным образом на морфологических характеристиках и экологических особенностях. Естественная межвидовая гибридизация в роде *Spiraea* происходит нередко, о предполагаемых гибридах упоминается в различных флористических сводках как об особях, имеющих промежуточные фенотипические признаки.

Предварительный скрининг молекулярных маркеров показал высокую разрешающую способность ядерных SSR локусов и ITS региона рДНК для видоидентификации *Spiraea*. Нами была разработана тест-система из трех мультиплексных панелей из 8 SSR локусов (Poliakova et al., 2018). ITS регион рДНК демонстрирует таксоноспецифичность. Виды *Spiraea*, как правило, различаются по последовательностям ITS (Poliakova et al., 2022).

Во время полевых работ в Тыве (Кызылский, Пий-Хемский кожууны) в 2023 году нами были найдены популяции, включающие как чистые виды (*S. media* Schmidt, *S. hypericifolia* L.), так и их гибриды. Эти виды могут легко скрещиваться благодаря одновременному цветению в условиях лесостепи. Оба вида являются преимущественно диплоидами ($2n = 18$). Для аутентичности тывинских гибридных особей *S. hypericifolia* × *S. media* были использованы полученные нами ранее данные по нуклеотидной изменчивости ITS региона (Полякова и др., 2015). Обнаруженная у *S. hypericifolia* в ITS 2 инсерция длиной 8 п. н. отсутствует у *S. media*. Гибриды, морфологически более сходные с *S. media*, такую инсерцию имеют.

Для рутинных популяционных задач, связанных с сотнями или даже тысячами изучаемых образцов, метод секвенирования остается дорогим и трудозатратным, поэтому важно оптимизировать подобные исследования. Нами была разработана технология, основанная на методе CAPS. Технология включает ПЦР с праймерами ITS 6 и ITS 9 (Potter et al., 2007b), рестрикцию ITS фрагмента (около 750 п. н.) с помощью ЭР Taq I, детекцию продуктов рестрикции в 2% агарозном геле и ТВЕ-буфере. Образцы *S. media* демонстрируют наличие двух бэндов размером около 250 п. н. и 300 п. н.; *S. hypericifolia* — 300 п. н. и 350 п. н.; гибрид *S. hypericifolia* × *S. media* имеет три бэнда: 250 п. н., 300 п. н. и 350 п. н. Данная технология не подразумевает проведения трудоемкой процедуры клонирования в вектор. Многокопийность ITS региона рДНК не влияет на результаты данных исследований.

Развитие молекулярных технологий обеспечило новый доказательный подход к идентификации видов и гибридов, таксономии и филогении. Молекулярные технологии могут дать теоретическую и практическую базу для селекции декоративных форм и гибридов *Spiraea*, отобранных в природных популяциях и валидированных молекулярно-генетическими методами.



Цитогеография марей Европейской части России

О.В. Разумова^{1, 2}, Т.А. Федорова³

¹ ФГБНУ ВНИИСБ, г. Москва

² ГБС им. Н.В. Цицина РАН, г. Москва

³ МГУ имени Н.В. Ломоносова, г. Москва

razumovao@gmail.com

Традиционно считается, что при продвижении с юга на север, к арктическим широтам, возрастает доля полиплоидных растений, в то время как к югу отмечается преобладание диплоидных форм и видов. Как правило данная закономерность объясняется большей гетерозиготностью полиплоидных растений и, как следствие, более высокой адаптивностью, которая необходима в неблагоприятных условиях северных зон. Однако данное правило распространяется не на все группы, и существует ряд сообщений об исключениях, когда данная закономерность не наблюдалась или была нарушена. Род *Chenopodium* семейства *Amaranthaceae* характеризуется наличием полиплоидных рядов у видов, причем характер возникновения полиплоидии (авто- или аллополиплоидия) еще предстоит установить.

В своем исследовании мы провели анализ пloidности растений Мари с трех географических территорий — Архангельска (север), Москвы (центр) и Волгограда (юго-восток) методом проточной цитофлуориметрии. Всего было проанализировано более 140 растений. В популяциях Москвы и Волгограда были обнаружены растения с содержанием ДНК, соответствующему диплоидам ($2n = 2x = 18$) и тетраплоидам ($2n = 2x = 36$) примерно в соотношении 1:1 (50% диплоидов и тетраплоидов в Волгограде, 56,25% и 43,75%, соответственно, в Москве). В Архангельске, помимо диплоидных (65,52%) и тетраплоидных (10,34%) образцов, были выявлены растения с промежуточным содержанием ДНК (24,14%), являющиеся предположительно триплоидами или тетраплоидами, где донорами геномов являются другие диплоидные виды, отличные от изученных. Точнее это позволит установить прямой подсчет хромосом. Гексаплоидных видов и цитотипов, обнаруженных в других регионах (Восточная Сибирь, Восточная Азия), в ходе данного исследования обнаружить не удалось.

Таким образом, можно сделать вывод, что в северных регионах местообитания линии видов *Chenopodium* не содержат большее число полиплоидов, чем в южных широтах, однако данное наблюдение может быть исключением из общего правила.

Кроме того, мы измерили размеры геномов диплоидных линий из Москвы, Архангельска и Волгограда, где в качестве референсного вида использовали петрушку (*Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss). В результате измерений выяснилось, что все изученные диплоиды отличаются по размеру генома друг от друга, при этом размер генома у растений из Волгограда наименьший, а из Москвы — наибольший.

Полученные результаты будут служить основой для дальнейших исследований в том числе методами молекулярной цитогенетики, с целью выявления таксономического разнообразия возникшего в результате авто- и аллополиплоидии и выявления доноров геномов аллополиплоидных видов *Chenopodium*.

Исследование было выполнено в рамках государственного задания № 122042700002–6 и 121032500084–6.



Нетипично высокий уровень полиморфизма митохондриальной ДНК в популяциях наездника *Aprostocetus neglectus* (Hymenoptera: Eulophidae)

Д.А. Романов¹

¹ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН

romdeal@mail.ru

Aprostocetus neglectus — гregarный эндопаразитоид, самки которого откладывают яйца в личинок божьих коровок 3 и 4 возрастов. Заражённая личинка коровки окукливается и погибает. Развитие личинок наездников до стадии имаго занимает от 15 до 32 дней в зависимости от температуры (Ceryngier et al., 2013). *A. neglectus* встречается в Европе, Северной Африке (Марокко) и в Азии (Турция, Израиль, Иран, Таджикистан, Пакистан, Корея, юг ДВ России) (Graham, 1987). Был завезён в Северную Америку при интродукции коровки *Chilocorus kuwanae* (Hendrickson et al., 1991).

Имаго *A. neglectus* были выведены из куколок божьих коровок *A. bipunctata* и *A. decempunctata*. Сборы куколок коровок были проведены среди городских насаждений в Вологде (2022 г.), Ярославле (2023 г.), Москве (2020–2023 гг.) и Ялте (2018 г.). В Вологде было собрано 517 куколок *A. bipunctata*, из них 16 заражённых наездником ($3.1 \pm 0.76\%$), в Ярославле было собрано 232 куколки *A. bipunctata*, из них 16 заражённых ($6.9 \pm 1.66\%$), в Москве было собрано 1458 куколок *A. bipunctata*, из них 53 заражённых ($3.6 \pm 0.49\%$) и 118 куколок *A. decempunctata*, из них 3 заражённых ($2.5 \pm 1.44\%$), в Ялте было собрано 24 куколки *A. bipunctata*, из них 5 заражённых ($20.8 \pm 8.28\%$).

Из одной куколки коровки рода *Adalia* может быть выведено от 2 до 26 имаго *A. neglectus*. Часть имаго *A. neglectus* из 4 популяций были использованы для проведения анализа по 2 маркерам: митохондриальному гену *cox1* и межгенной последовательности ITS2. Последовательности ITS2 оказались идентичны у всех образцов *A. neglectus*, подтверждая их принадлежность к одному виду, тогда как полиморфизм по гену *cox1* варьирует от 0.2 до 4.9%. При этом максимальные значения генетических расстояний для каждой популяции также оказались довольно высокими: Вологда — 3.3%, Ярославль — 4.8%, Москва — 4.2%, Ялта — 3.0%. Такие значения генетических расстояний по *cox1* обычно характерны для подвидов и близнецовых видов, а не для разных популяций (Картавцев, 2013). Каждая популяция *A. neglectus* характеризуется специфическим набором митохондриальных гаплотипов, что позволяет предположить отсутствие генных потоков между ними. Число выявленных гаплотипов почти совпадает с количеством проверенных выводков наездников, что свидетельствует о равномерном распределении частот гаплотипов в популяциях. Длительное изолированное существование популяций могло быть причиной возникновения высокого уровня полиморфизма мтДНК. У остальных представителей подсемейства Tetrastichinae, по результатам анализа данных, зарегистрированных в базах данных GenBank и BOLD, полиморфизм мтДНК не превышает 2.7% между разными популяциями, а в пределах одной популяции не превышает 1.8%. Поскольку в анализ чаще берут имаго, собранных в природе, а не выведенных из личинок или куколок хозяев, то это может привести к искусственному снижению значений внутривидового полиморфизма у ос-тетрастихин.

- [1] Картавцев Ю. Ф. Генетическая дивергенция видов и других таксонов. Географическое видообразование и генетическая парадигма неodarвинизма в действии // Успехи современной биологии. 2013. Т. 135. № 5. С. 419–451.
- [2] Ceryngier P., Roy H. E., Poland R. L. Natural enemies of ladybird beetles // In: Ecology and behaviour of the ladybird beetles (Coccinellidae) / Ed. by Hodek I., van Emden H. F., Honek A. Chichester: Wiley-Blackwell, 2012. P. 375–443.
- [3] Graham M. W. R. de V. A reclassification of European Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae), with a revision of certain genera // Bull. Brit. Mus. Nat. Hist. 1987. V. 55. I. 1. P. 1–392. Hendrickson R. M., Drea J. J., Rose M. A distribution and establishment program for *Chilocorus kuwanae* (Silvestri) (Coleoptera: Coccinellidae) in the United States // Proc. Entomol. Soc. Wash. 1991. V. 93. I. 1. 197–200.



Использование методов машинного обучения в идентификации породной принадлежности лошадей

Э.А. Солошенко¹, А.Д. Солошенко¹, В.Н. Воронкова¹

¹ Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН
nickolaevaelina@gmail.com

Современное развитие животноводства тесно связано с комплексным анализом множества различных параметров, таких как производительность, генетические маркеры, экстерьер животных, географические и экологические показатели, племенная ценность и происхождение [1]. Для работы с этими данными необходимо развитие цифровых технологий и математических методов анализа. Настоящее исследование посвящено обучению модели для идентификации породной принадлежности лошадей, поскольку в российском коневодстве стоит острая проблема сохранения разнообразия пород. Заводские и аборигенные породы лошадей России сформировались в условиях суровой экологии и географии нашей страны. Многие из них находятся на грани исчезновения, с маточным поголовьем, не превышающим 200 голов [2].

В основе исследования лежит генотипическая матрица стандартной панели из 17 микросателлитных локусов. Проведен популяционно-генетический анализ заводских (ахалтекинская, буденновская, донская, русская верховая, владимирская тяжеловозная, русская тяжеловозная), аборигенных пород лошадей России, европейских пород, а также одичавших лошадей острова Водный.

Обучение модели осуществлялось на основе обучающей (70%) и валидационной (30%) выборок с использованием микросателлитных данных как признаков (features). Для обучения применялась библиотека CatBoost. Средняя точность обучаемости модели (accuracy) для всех пород составила 0,93 [3]. Для каждой породы были построены матрицы ошибок с попарными значениями. Процент правильно определенных животных колебался от 0,5 для советского тяжеловоза до 1 для донской породы и одичавших лошадей с острова Водный. В целом, модель верно идентифицирует большую часть пород, совершаемые ошибки легко интерпретируемы исследователем. Планируется расширение числа исследуемых пород и обучение модели на других видах животных.

- [1] Моисеева И. Г., Уханов С. В., Столповский Ю. А. и др. Генофонды сельскохозяйственных животных. Генетические ресурсы животноводства России. — М.: Наука, 2006. — Р. 462 с.
- [2] Храброва Л. А., Зайцев А. М., Суходольская И. В. и др. Проблемы учета и сохранения аборигенных пород лошадей // Аборигенное коневодство России: история, современность, перспективы: Сб. науч. трудов по матер. II Всеросс. научно-практ. конф. с междунар. участием. — Мезень, 2018. — С. 170–176.
- [3] Powers D. M. W. Evaluation: from precision, recall and F-measure to ROC, informedness, markedness and correlation // arXiv preprint arXiv:2010.16061. 2020. <https://doi.org/10.48550/arXiv.2010.16061>.



Спасти русского осетра. Природный полиморфизм и генетический мониторинг искусственного воспроизводства вида

В.Д. Щербакова¹, А.Е. Барминцева¹, Н.С. Мюге¹

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Россия, Москва
viktorina.shch@mail.ru

Русский осетр (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt, 1833) — уникальный древнейший представитель ихтиофауны Понто-Каспийского бассейна. Современный ареал включает Каспийское, Черное и Азовское море. Русский осетр — анадромный представитель семейства, большую часть жизни обитающий в море и совершающий нерестовые миграции в реки. До зарегулирования стоков крупных рек плотинами гидроэлектростанций в середине XX века, особи русского осетра совершали протяженные нерестовые миграции. Строительство гидротехнических сооружений привело к практически полному исчезновению естественного нереста. В настоящее время для поддержания численности популяций русского осетра осуществляются мероприятия по искусственному воспроизводству, проводимые 7 каспийскими осетровыми рыбодобными заводами (далее ОРЗ), 5 азовскими, а черноморская популяция поддерживается европейскими производителями на р. Дунай.

Целью работы стало изучение генетического разнообразия русского осетра на всем ареале. Масштабное генотипирование производителей, имеющих природное происхождение, и в настоящее время содержащихся на ОРЗ, позволило получить данные о полиморфизме наиболее варибельного у осетровых рыб участка митохондриальной ДНК — Д-петли. За время проведения исследования была определена нуклеотидная последовательность размером 725 п. н. для 5500 особей русского осетра. Основную часть в исследованной выборке составляют представители каспийской популяции, в меньшем объеме представлены азовская и черноморская популяции.

В исследованной выборке обнаружено 453 мтДНК-гаплотипа. Из них для каспийской популяции определено 403 гаплотипа, 387 из которых являются специфическими для этой популяции. В черноморской популяции обнаружено 26 гаплотипов (15 специфических), в азовской — 17 гаплотипов (3 специфических). На основании полученных данных построены филогенетическое древо и сеть гаплотипов мтДНК русского осетра, выявлены четко различающиеся гаплогруппы.

Проведенная масштабная работа позволила многократно расширить представления о полиморфизме мтДНК русского осетра. Использование полученных данных при осуществлении мероприятий по искусственному воспроизводству необходимо для поддержания генетического разнообразия природных популяций.

Симпозиум 19: Генетика старения, поведения и нейрогенетика
Symposium 19: Genetics of Ageing, Behavior and Neurogenetics



Уровень экспрессии гена *shaggy*, кодирующего высококонсервативную протекиназу GSK3, в жировой ткани влияет на ее свойства и выживание *D. melanogaster*

Ю.А. Андреев¹, Е.Г. Пасюкова¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт», Москва

y.andreev96@yandex.ru

Гомеостаз, то есть сохранение структурно-функциональной стабильности всей совокупности органов и тканей, необходим для выживания организма. Старение сопряжено с потерей гомеостаза, что, среди прочих причин, может быть вызвано ассоциированным с возрастом нарушением экспрессии генов. Моделирование процессов нарушения гомеостаза с помощью разнонаправленных изменений экспрессии консервативных генов и кодируемых ими белков, играющих ключевую роль в контроле выживания, может пролить свет на причины старения и способы его замедления и продления жизни.

Киназа гликогенсинтазы 3 (GSK3) является высококонсервативным ферментом, влияющим на множество функций клетки. Используя трансгенные конструкции, несущие нормальную и мутантную копии гена *shaggy*, кодирующего GSK3, мы индуцировали эктопическую экспрессию двух различных форм протеинкиназы в жировом теле дрозофилы, которое у насекомых выполняет функции печени и жировой ткани млекопитающих. Эктопическая экспрессия нормальной формы GSK3 и мутантной формы, в которой аминокислотная замена S9A препятствует регуляции протеинкиназы клеточными факторами, приводила к гибели особей на куколочной стадии р5. Гибель особей могла объясняться резким падением количества общего белка в жировом теле: на 68% в случае нормальной копии GSK3 и на 40% в случае нерегулируемой копии. Хотя эктопическая экспрессия обеих трансгенных конструкций привела к увеличению количества транскрипта *shaggy*, в случае нормальной формы GSK3 количество и активность суммарного белка GSK3 в клетках не изменились, а в случае нерегулируемой формы GSK3 — увеличились. Эти результаты свидетельствуют о том, что индуцированное увеличение экспрессии гена *shaggy* контролируется клеточными факторами на посттранскрипционном уровне, что приводит к восстановлению гомеостаза. Несмотря на это, эктопическая экспрессия *shaggy* повлияла на выживание и количество общего белка в клетке, причем в случае нерегулируемой копии влияние на количество белка оказалось более сильным. Можно предположить, что снижение выживаемости и общего количества белка являются следствиями гиперактивной посттранскрипционной регуляции количества GSK3. Однако молекулярные механизмы наблюдаемых эффектов неясны и требуют дальнейшего изучения.



Геропротекторные свойства растительного экстракта *P. grandiflora* на модели кинурениновых мутантов дрозофилы

Я.Н. Бобков¹, О.Н. Антосюк², В.В. Костенко¹

¹ Казанский федеральный университет, Казань

² Уральский федеральный университет им. первого президента России Б.Н. Ельцина, Екатеринбург

bobkovyan@inbox.ru

На рост и старение могут влиять различные факторы, такие как болезни, травмы, питание, физические упражнения, стресс и многочисленные факторы окружающей среды. Старение представляет собой сложный процесс, характеризующийся прогрессирующим снижением физиологических функций, за которым следует дисфункция и, в конечном счете, смерть. Источники антиоксидантов, содержащие различные биологически активные компоненты из природных источников, рекомендуются для предотвращения старения. В настоящее время мало известно о геропротекторных свойствах *Prunella grandiflora*.

В работе было проанализировано влияние растительного экстракта на продолжительность жизни имаго дрозофил с мутациями в генах кинуренинового пути обмена триптофана, а также рассмотрено протекторное действие экстракта при оценке выживаемости мух в условиях стресса голода. Результатом исследования явилось то, что *P. grandiflora* L. достоверно увеличивает выживаемость при стандартных условиях в линиях *vermilion*, *cinnabar*, *scarlet* (только самцы); также при воздействии стресс-фактора голод, показатель выживаемости повышается у мутантов *cinnabar* (самки), *scarlet* (самцы), получавших экстракт *P. grandiflora* L.

Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2030).



Генетический контроль геотаксиса у *Drosophila melanogaster*

А.А. Гончарова¹, Ю.В. Брагина¹, Н.Г. Беседина¹, Н.Г. Камышев¹

¹ ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, г. Санкт-Петербург

anemonenemorosa@yandex.ru

Отрицательный геотаксис является врожденной реакцией у дрозофилы. Рецепция гравитации осуществляется специализированными сенсиллами, информация с которых передается в гравитационный анализатор в мозге мух. Ранее было показано, что уровень геотаксиса имеет полигенный контроль, определено несколько десятков генов дрозофилы, мутации в которых приводят к изменению геотаксиса. Однако целостная картина молекулярно-генетических процессов этого типа поведения все еще не завершена.

Для выявления новых генов, участвующих в регуляции у геотаксиса у дрозофилы, мы провели скрининг коллекции P_dL-инсерционных аутосомных мутантов (около 100 линий с известной локализацией инсерции). Для определения уровня геотаксиса использовали тест на взбирание и модифицированный тест на гравипозиционирование. Был выявлен ряд новых генов-кандидатов, продукты которых участвуют в процессе реализации реакции геотаксиса.

Роль выявленных генов-кандидатов в реализации реакции геотаксиса показана впервые.

Для большинства выявленных генов имеются ортологи у человека.

Работа поддержана средствами федерального бюджета в рамках государственного задания ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН (№ 1021062411629–7–3.1.4). Благодарим ЦКП «Биоколлекция» ИФ РАН за помощь в поддержании линий дрозофилы.



Участие гена *limk1* в обучении и забывании у дрозофилы

Е.С. Заломаева^{1,2}, Е.С. Егозова², А.В. Медведева², А.В. Журавлев², Е.А. Никитина^{1,2}

¹ Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена

² Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН

zalomaeva.e@yandex.ru

Одна из ключевых задач нейрогенетики — углубление знаний о молекулярно-генетических механизмах, вовлеченных в возникновение и развитие нейродегенеративных и геномных заболеваний. Данные заболевания характеризуются когнитивными нарушениями, в том числе нарушениями памяти. Поскольку сохранение памяти является результатом процессов как обучения, так и забывания, возникает вопрос: что в действительности является причиной когнитивной патологии — дефект обучения и консолидации или нарушение врождённого механизма забывания? Активное забывание регулируется сигнальным каскадом ремоделирования актина, ключевой фермент — LIMK1. Изменения экспрессии гена *limk1* могут приводить к нейрокогнитивным патологиям.

Цель исследования — изучение роли гена *limk1* в процессах обучения и забывания у *D. melanogaster*.

Мы провели анализ формирования и динамики изменения памяти в парадигме условно-рефлекторного подавления ухаживания у взрослых 5-суточных самцов *D. melanogaster* на временных интервалах 0, 15, 30, 60 мин и 24 ч после 30 мин тренировки. На 1 этапе анализ провели у линий с полиморфизмами по гену *limk1* (*CS*, *Ber*, *Or-R*) и мутанта *agn^{ts3}*; на 2 этапе — у тех же линий при воздействии тепловым шоком (ТШ) за 1ч. до эксперимента. На 3 этапе изучали линии с изменением экспрессии гена *limk1* в холинергических, дофаминергических и серотонинергических нейронах, в нейронах *fruitless* и в нервной системе.

У линий *CS* и *Ber* не выявили нарушений обучения, но наблюдали достоверные различия на некоторых точках. Линии *Or-R* и *agn^{ts3}* имели нарушения формирования памяти и отличались от линии дикого типа *CS*. Воздействие ТШ полностью устраняло отличия *Ber* и *agn^{ts3}* от *CS* и частично *Or-R* от *CS*. Нейроспецифическая активация *limk1* в различных типах нейронов вела к снижению памяти и ускоряла забывание, в то время как подавление *limk1* привело к различным поведенческим эффектам. Полученные результаты подтверждают вовлечённость гена *limk1* в процессы активного забывания и требуют дальнейшего исследования с целью выявления путей целенаправленного терапевтического воздействия на белки и гены, вовлечённые в развитие нейродегенерации.

Работа выполнена при поддержке Государственной программы РФ 47 ГП «Научно-технологическое развитие Российской Федерации» (2019–2030).



Экспрессия *CREB* и *AP-1* при формировании памяти у медоносной пчелы

Т.Г. Зачепило¹

¹ Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН

polosataya2@mail.ru

Медоносная пчела (*Apis mellifera*) — удобная модель для изучения механизмов обучения и памяти. Известно, что для формирования долговременной памяти необходимо протекание двух волн транскрипции генов. В первой волне преимущественно экспрессируются гены транскрипционных факторов, тогда как во вторую — гены разнообразных ферментов, сигнальных и структурных белков. Гены первой волны — это гены раннего ответа. Наиболее известными, работающими в ЦНС у млекопитающих, являются гены, кодирующие транскрипционные факторы CREB и AP-1. Данных о роли генов раннего ответа в контексте обучения и памяти у пчелы меньше. В данной работе изучали экспрессию гомологов этих генов мозге медоносной пчелы через 1 час после однократного обучения.

У 10–20-суточных пчел вырабатывали условный обонятельный рефлекс вытягивания хоботка. Сочетали условный стимул — запах гвоздики с пищевым подкреплением — 50% раствором сахарозы. При однократной схеме обучения сочетание стимулов предъявляли единожды. Контролем служили пчелы, которым предъявляли стимулы отдельно, с интервалом 3 минуты. Предварительно пчел тестировали на пищевую и сенсорную возбудимость. Проверяли сохранность рефлекса в памяти через 1 час. Далее извлекали мозг, выделяли тотальную РНК, проводили обратную транскрипцию. Проводили ПЦР-РВ.

Было показано, что уровень экспрессии генов был выше при после обучения, чем в контроле. Полученные результаты хорошо согласуются с ранее полученными нами данными об эпигенетическом статусе хроматина в нейронах мозга пчелы в этот же период времени. Таким образом, у медоносной пчелы при формировании памяти вовлечены те же гены раннего ответа, в том числе и при однократной схеме обучения.



Долгосрочная динамика патологических изменений в поведении у крыс двух линий, селектированных по порогу возбудимости нервной системы, в ответ на хронический стресс

А.С. Левина¹, Н.А. Дюжикова¹

¹ ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН

anna.avia@gmail.com

Последствия хронического психогенного стресса затрагивают ряд систем организма — в том числе нервную, эндокринную, иммунную — что может приводить к развитию постстрессорных патологических состояний. Однако симптомы развития постстрессорной патологии демонстрируют дифференцированную динамику манифестации в случае каждой из этих систем и их отдельных звеньев. В клинике это обстоятельство может затруднять диагностику подобных патологий и приводить к задержке в их обнаружении и терапии. Динамика проявления симптомов может зависеть и от врождённых конститутивных особенностей организма — в том числе морфофункциональных характеристик нервной системы. Эти вопросы целесообразно исследовать на генетических моделях животных со стабильно наследуемыми, проявляемыми и измеряемыми параметрами функционирования нервной системы. Целью данной работы была оценка изменений в поведении крыс двух селектированных линий с различной генетически детерминированной возбудимостью нервной системы в ответ на хронический эмоционально-болевого стресс на протяжении длительных промежутков времени.

Объектом послужили животные из Биоколлекции ФГБУН Института физиологии им. И. П. Павлова РАН (№ ГЗ 0134–2016–0002, патенты на селекционное достижение № 10769 и 10768, выданные ФГБУ «Государственная комиссия РФ по испытанию и охране селекционных достижений», зарегистрировано в государственном реестре охраняемых селекционных достижений 15.01.2020): взрослые самцы крыс линий с высоким («ВП», $3,5 \pm 0,3$ В, низковозбудимые) и низким («НП», $0,70 \pm 0,04$ В, высоковозбудимые) порогами возбудимости *n. tibialis* к действию прямоугольных электрических импульсов длительностью 2 мс. Селекция была проведена на основе аутбредной популяции Wistar в лаборатории генетики высшей нервной деятельности Института физиологии им. И. П. Павлова РАН. Длительное эмоционально-болевое стрессирование (ДЭБС) проводили по стохастической схеме К. Гехта. На сроках 1 сутки, 2 недели, 1 месяц, 1,5 месяца, 2 месяца и 7 месяцев после окончания ДЭБС оценивали поведение крыс в тестах «Открытое поле» (ОП), «Тёмно-светлая камера» (ТСК), «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), «Тест экстраполяционного избавления» (ТЭИ).

Показано, что базово у крыс высоковозбудимой линии НП более выражено ориентировочно-исследовательское поведение и менее выражена тревожность, чем у крыс контрастной линии ВП. Спустя 1 сутки после ДЭБС, крысы линии НП продемонстрировали снижение исследовательской активности в ОП, крысы ВП не продемонстрировали различий в поведении по сравнению с контролем. Аналогичные результаты были получены спустя 2 недели после ДЭБС. Через 1 месяц после ДЭБС у крыс линии ВП проявилось значимое снижение двигательной активности в ОП. Спустя 2 месяца после ДЭБС, значимое снижение двигательной активности наблюдалось уже у обеих линий крыс в статистически равной степени. Спустя 7 месяцев после ДЭБС, двигательная активность в ОП у стрессированных животных обеих линий восстанавливалась. Таким образом, динамика развития долгосрочного постстрессорного патологического состояния у каждой из линий крыс имела свою временную и симптоматическую специфику, предположительно связанную с генетически детерминированным уровнем возбудимости нервной системы животных. Характерно, что у крыс обеих линий статистически значимое проявление поведенческих симптомов было обнаружено преимущественно не сразу после стрессорного опыта, а спустя длительное время. Сопоставление динамики поведенческих симптомов с физиологическими, регистрируемыми в более ранние сроки после стресса, позволит представить более полную картину развития патологии в зависимости от генетически детерминированных характеристик организма.



Изменение активности сигнальных путей МАПК с возрастом как общий механизм патогенеза нейродегенеративных заболеваний

Н.А. Муралёва¹, Н.Г. Колосова¹

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (ИЦИГ СО РАН), 630090, Новосибирск

myraleva@bionet.nsc.ru

Возраст — ведущий фактор риска болезни Альцгеймера (БА) и возрастной макулярной дегенерации (ВМД), заболеваемость которыми увеличивается на фоне роста продолжительности жизни. Эффективных способов профилактики и лечения этих нейродегенеративных заболеваний нет, что обусловлено неполнотой знаний их патогенеза. Перекрываются механизмы патогенеза БА и ВМД, среди которых усиленный окислительный стресс, воспаление, нарушение митохондриальных функций и поддержания протеостаза, проявлением которого становится патологическая агрегация и накопление аномальных внеклеточных отложениях — сенильных бляшек в мозге пациентов с БА и в друзах больных ВМД. Развитие этих отклонений может быть ассоциировано с нарушением с возрастом регуляции МАПК сигнальных путей. Цель настоящего исследования — сравнение изменений активности ЕРК1/2 и р38МАПК сигнальных путей в структурах мозга и сетчатке с возрастом и при развитии БА и ВМД. Работа выполнена на крысах Вистар и ОХУС — модели преждевременного старения, одним из проявлений которого становятся одновременное развитие признаков БА и ВМД.

Сравнение экспрессии генов, вовлечённых в сигнальные пути ЕРК1/2 и р38 МАПК (согласно Rat Genome Database), в сетчатке, префронтальной коре и гиппокампе крыс ОХУС и Вистар (данных RNA-seq) показало, что уровни мРНК этих генов тканеспецифичны, зависят от генотипа животных и изменяются с возрастом. В сетчатке количество дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ), вовлечённых в эти пути, с возрастом снижается у крыс обеих линий и в 18 мес. минимально. Максимальные межлинейные различия наблюдались в возрасте 20 дней, на «доклинической» стадии развития ВМД-подобной патологии у крыс ОХУС. В числе генов с повышенным уровнем мРНК есть как активаторы, так и ингибиторы активности ЕРК1/2 и р38 МАПК сигнальных путей. В возрасте 3 мес. (период манифестации признаков ВМД) количество ДЭГ снижается, при этом среди генов с повышенным уровнем мРНК преобладают гены-активаторы. И только в возрасте 18 мес., в период активной прогрессии признаков ВМД, в сетчатке крыс ОХУС выявлены признаки снижения активности сигнальных путей на уровне экспрессии генов.

В структурах мозга крыс обеих линий характер изменений с возрастом профиля экспрессии генов, вовлечённых в ЕРК1/2 и р38МАПК сигнальные пути, был аналогичным тому, что мы наблюдали в сетчатке. При этом как в префронтальной коре, так и в гиппокампе с возрастом увеличивалось количество генов, экспрессия которых различалась у крыс ОХУС и Вистар.

Объективным показателем активности сигнальных путей ЕРК1/2 и р38МАПК служит уровень фосфорилирования ключевых киназ. Мы оценили его на белковом уровне методом вестерн блот анализа. У крыс обеих линий во всех исследованных тканях — сетчатке, префронтальной коре и гиппокампе — с возрастом уровень фосфорилированных форм ЕРК1/2 и р38МАПК значительно возрастает. При этом у крыс ОХУС их накопление происходит активней и усиливается по мере прогрессии признаков БА и ВМД.

Таким образом, наши результаты показали, что при физиологическом старении крыс Вистар и при преждевременном старении крыс ОХУС в сетчатке и структурах мозга направленность изменений активности ЕРК1/2 и р38МАПК сигнальных каскадов как на уровне экспрессии генов, так и на белковом уровне одинакова. При этом как манифестация, так и прогрессия признаков БА и ВМД происходят на фоне усиленного фосфорилирования ЕРК1/2 и р38МАПК, что позволяет рассматривать повышение активности МАПК сигнальных путей как общий механизм развития БА и ВМД уже на ранних стадиях этих заболеваний. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 24-25-00030).



Роль гена *sws/PNPLA6 Drosophila melanogaster* в поддержании гомеостаза нейронов и глиальных клеток

Е.В. Рябова¹, Е.А. Иванова¹, А.Е. Комиссаров¹, С.В. Саранцева¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ, Гатчина

ryabova_ev@pnpi.nrcki.ru

Ряд наследственных заболеваний человека ассоциирован с дисфункцией гена *PNPLA6*, который кодирует (лизо)фосфолипазу *PNPLA6/NTE*. С этим же геном связан синдром отсроченной нейропатии, вызванный отравлением нейропатическими фосфорорганическими соединениями. Нейродегенерация, сопровождающая эти заболевания, прогрессирует с возрастом, усугубляя клинический фенотип. Эффективных таргетных методов терапии этих заболеваний не существует, так как молекулярные механизмы гибели клеток нервной системы во многом остаются неизвестными. Для изучения процессов, которые происходят в клетках при дисфункции гена *PNPLA6/NTE*, была создана модель, позволяющая всесторонне изучить молекулярные и клеточные последствия подавления функции гомологичного гена на *Drosophila melanogaster*.

Показано, что нарушение работы гена *sws/PNPLA6 Drosophila melanogaster* может сопровождаться окислительным стрессом и изменением метаболизма липидов, вызывать аномалии нейромышечных окончаний и митохондрий, приводить к гибели нейронов и глии гематоэнцефалического барьера, влияя на поведенческую активность организма и продолжительность жизни [1, 2]. Выявленные закономерности вносят существенный вклад в понимание патологических процессов в клетках нервной системы и позволяют предложить потенциальные терапевтические пути предотвращения пагубных последствий, сопровождающих заболевания, вызванные дисфункцией гена *PNPLA6/NTE*.

1. Ryabova E. V. et al. Morpho-Functional Consequences of Swiss Cheese Knockdown in Glia of *Drosophila melanogaster* // *Cells*. 2021. V. 10. № 3. P. 529–548.
2. Melentev P. A. et al. Loss of *swiss cheese* in Neurons Contributes to Neurodegeneration with Mitochondria Abnormalities, Reactive Oxygen Species Acceleration and Accumulation of Lipid Droplets in *Drosophila* Brain // *International Journal of Molecular Sciences*. 2021. V. 22. № 15. P. 8275–8303.

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 1023031500037–7–1.6.8;1.6.1;1.6.2;1.6.3 *Изучение молекулярных и клеточных компонентов патогенеза социально-значимых заболеваний для разработки методов ранней диагностики и лечения*).



Скорость замен в COX1 мтДНК, размер тела и поведение плотвы *Rutilus rutilus* (L.), леща *Abramis brama* (L.) и их реципрокных гибридов

В. В. Столбунова¹, Ю. В. Герасимов¹

¹ Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Папанина РАН

vvsto@mail.ru

Изменчивость митохондриального фрагмента гена первой субъединицы цитохром *c*-оксидазы (COX1, мтДНК) отрицательно связана с размером тела и сроком полового созревания плотвы *Rutilus rutilus* и леща *Abramis brama*, и является причиной межгеномного конфликта у гибридов ♀*R. rutilus* × ♂*A. brama* с высокополиморфной мтДНК плотвы. Разные аэробные потребности из-за различий по размеру тела плотвы и леща могли усилить отбор коадаптированных митохондриально-ядерных генов для выработки АТФ и привести к расхождению видов по двигательной активности и нервным процессам. Производство АТФ в клетке сопряжено с утечкой свободных радикалов (АФК), линейно связанной со скоростью замен в генах COX. Как сигнальные молекулы АФК индуцируют экспрессию генов, ответственных за метаболическую адаптацию к стрессовому фактору, регулируя процессы жизнедеятельности. Уровни АФК выше порогового ведут к накоплению мутантных митохондриально-ядерной коадаптации дыхательных комплексов.

Изучены признаки поведения, размеры тела и изменчивость COX1 у сеголетков плотвы, леща и их реципрокных гибридов в условиях совместимости/несовместимости геномов по COX1. Меньшая по размеру тела плотва имеет более высокую двигательную, пищевую активность и низкий порог возбудимости, чем обусловлены межвидовые различия поведенческих реакций с лещом без хищника и в присутствии малоактивного хищника. Межгеномный конфликт, проявляющийся у гибридов ♀*R. rutilus* × ♂*A. brama* как нарушение наследования большей длины тела от самца леща, не влияет на материнский эффект признаков поведения. У гибридов ♀*A. brama* × ♂*R. rutilus* с мтДНК леща показано отклонение к плотве по двигательной активности, силе возбудительного процесса и увеличение смелости, что может быть следствием ремоделирования энергетического метаболизма из-за наследования длины тела плотвы. Низкая скорость замен в COX1 и порог АФК у *A. brama* и гибридов AR хорошо объясняют высокий порог раздражения нервной системы и сходство кривых динамики поведения, развитие оксидативного стресса происходит быстро, за меньшее число движений, чем у плотвы. *R. rutilus* и гибриды RA, благодаря высокой скорости замен в COX1, могут переносить субоптимальное соответствие митохондриально-ядерных дыхательных комплексов и более высокую утечку АФК, что позволяет им снизить порог возбудимости нервной системы.



Репликативный анализ ассоциаций генетических локусов с манифестацией агрессивного поведения

Д.В. Яковлева^{1,2}, А.В. Казанцева^{1,2}, Ю.Д. Давыдова^{1,2}, Э.К. Хуснутдинова^{1,2}

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

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Уфимский университет науки и технологий», лаборатория нейрокогнитивной геномики, Уфа, Россия

dianaakovleva464@gmail.com

Антисоциальное поведение (АП) — это деструктивные действия, характеризующиеся скрытой и явной враждебностью, нарушением прав и безопасности окружающих. По результатам недавних метаанализов GWAS АП, проведенных в европейских популяциях, были выявлены наиболее значимые ($p < 10^{-7}$) полиморфные локусы (SNP) в генах *CADM2* rs993137, *ZIC4* rs2279829, *REV3L* rs458806, *XKR6* rs4240671, *SORCS3* rs11596214, *BDNF* rs6265, *FOXP1* rs11720703, *TMEM18* rs6711254, *FURIN* rs4702, (Karlsson Linnér et al., 2021), *LINK00907* rs7232069, *LOC101928367* rs1671498, *NTN1* rs68072647, *CSNK1G2* rs12977121, *FOXP2* rs12536335 и rs1476535, *LINK00158* rs2829734 и rs4714329 (Jorim J. Tielbeek et al., 2022). Однако остается открытым вопрос об ассоциации вышеуказанных локусов с АП в других популяциях, в частности, у лиц из РФ.

Целью работы являлось репликационное исследование «топовых» полиморфных вариантов, идентифицированных в метаанализах GWAS АП, включая анализ ассоциаций вариантов генов в группах убийц и контрольной группе в зависимости от ряда социальных факторов.

В исследование включены 227 лиц (7% женщин, ср. возраст $41,5 \pm 14,4$ лет), совершивших особо тяжкие преступления (убийства). Контрольная группа ($N = 254$) соответствовала по возрасту, полу и этнической принадлежности выборке лиц с АП. Генотипирование 17 вышеуказанных локусов проводилось методом ПЦР в реальном времени (ООО «Максим Медикал», LGC Genomics, UK) на амплификаторе «CFX96» (BioRad, США). Статистическая обработка данных была проведена с помощью логистического регрессионного анализа по аддитивной модели, в котором независимыми переменными выступали генотипы (PLINK v.1.09, $p < 0,05$). Анализ осуществлялся в общей выборке и в подгруппах, разделенных по ряду социальных параметров, включая табакокурение, наличие семейной отягощенности психическими расстройствами, уровень материального положения, уровень образования, жестокое обращение в детстве, черепно-мозговые травмы.

В результате анализа была реплицирована ассоциация аллеля rs458806*С в гене *REV3L* с манифестацией АП в общей выборке ($OR = 1,346$, 95%CI 1,01–1,79). Ассоциация других полиморфных локусов с развитием АП была подтверждена только в подгруппах. В частности, среди лиц с табакокурением (аллель rs11596214*G в гене *SORCS3*: $p = 0,040$, $OR = 1,357$, 95%CI 1,02–1,82; аллель rs4702*А в гене *FURIN*: $p = 0,023$, $OR = 1,400$, 95%CI 1,05–1,87), лиц с семейным анамнезом психопатологий (аллель rs11596214*G в гене *SORCS3*: $p = 0,010$, $OR = 1,608$, 95%CI 1,02–2,32), лиц с низким уровнем образования (аллель rs2279829*С в гене *ZIC4*: $p = 0,022$, $OR = 1,610$, 95%CI 1,08–2,44), лиц с наличием конфликтных взаимоотношений в семье (аллель rs4240671*G в гене *XKR6*: $p = 0,030$, $OR = 1,471$, 95%CI 1,04–2,08; аллель rs4702*А в гене *FURIN*: $p = 0,041$, $OR = 1,441$, 95%CI 1,02–2,04), лиц с опытом жестокого обращения в детстве (аллель rs11720703*Т в гене *FOXP1*: $p = 0,041$, $OR = 1,683$, 95%CI 1,02–2,77), лиц с черепно-мозговой травмой (аллель rs12977121*А в гене *CSNK1G2*: $p = 0,045$, $OR = 1,876$, 95%CI 1,01–3,47).

Результаты исследования отчасти подтвердили ассоциации локусов генов *REV3L*, *SORCS3*, *ZIC4*, *XKR6*, *FURIN*, *FOXP1* и *CSNK1G2* с манифестацией АП в когорте лиц с крайними формами АП из России. Однако эти ассоциации проявляются при неблагоприятных средовых и социально-бытовых условиях (табакокурение, низкий уровень образования, семейная отягощенность психопатологиями, конфликтные ситуации в семьях, жестокое обращение в детстве и ЧМТ).

Симпозиум 20: Селекция и биотехнология микроорганизмов
Symposium 20: **Biotechnology and Breeding of Microorganisms**



Влияние обработки семян биопрепаратами и внесения фосфорного удобрения на таксономическую структуру ризосферы *Coriandrum sativum* в различные фенофазы

С.Ф. Абдурашитов¹, А.А. Кичко², К.С. Грицевич¹, А.И. Алексеева¹

¹ ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма»

² ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии»

asuleyman83@rambler.ru

Управление биологическими процессами в агроценозах возможно через интродукцию агрономически ценных штаммов микроорганизмов в ризосферу или гистосферу растений. Она усиливает полезное и/или ослабляет негативное воздействие для реализации продуктивного потенциала растений. Ризосферный эффект сельскохозяйственных растений широко изучается в научной литературе, однако влияние его на эфиромасличные культуры и наоборот исследователями пока изучен недостаточно. Поэтому цель исследования: изучить влияние обработки семян биопрепаратами и внесение фосфорных удобрений на таксономическую структуру ризосферы кориандра посевного в различные фенофазы.

Кориандр сорта Силач (селекции НИИСХ Крыма) выращивали на черноземе южном малогумусном (45°31'37.9"N34°11'41.0"E) согласно технологии, разработанной для этой культуры (Шляпников и др., 2008). Перед посевом семена инокулированы биопрепаратом Микробиоком-агро на основе штаммов Крымской коллекции микроорганизмов (УНУ <https://www.ckp-rf.ru/catalog/usu/507484/>) и ассоциацией *Funnelliformis mosseae* 1–16. Фосфорные удобрения вносили в виде растворимого удобрения в количестве 10 кг д. в. / га в рядки вместе с посевом. Опыт проведен в 4-х кратной повторности, с рендомизованным расположением, площадь делянки — 35 м². Отбор ризосферы кориандра проводили в две фенофазы: цветение и зрелость. Выделение тотальной ДНК проводили по протоколу RIAM (Pinaev et al, 2022.). Таксономический состав ампликонных библиотек 16S рРНК (Bates et al., 2010) определяли на платформе Illumina по протоколу производителя.

В 2023 году анализ таксономического разнообразия прокариот в ризосфере кориандра выявил 18 филогенетических групп микроорганизмов, из которых 11 были обильными (представленность более 1%). Обилие филы *Crenarchaeota* во всех вариантах опыта было сопоставимо, однако от фазы цветения к фазе зрелости наблюдалось уменьшение доли этого типа с 10,9–12,2% до 7,6–8,8%. Значительное снижение доли от цветения к зрелости наблюдали у филы *Acidobacteriota* на 0,5–1,1% (до 2,3–2,6%), а также представителей Unclassified микроорганизмов на 4,9–10,9% (до 25,2–28,2%). Возросло присутствие бактерий из фил *Actinobacteriota*, *Bacteroidota*, *Muxococcota* и *Proteobacteria* до показателя в 20,1–22,2%, 5,4–6,4%, 2,8–3,1% и 24,2–24,9% соответственно. Доля фил *Firmicutes*, *Gemmatimonadota*, и *Planctomycetota* не изменилась в двух фазах наблюдения и оставалась в пределах 1,0–2,5%.

Изменения от применения биопрепаратов и фосфорного удобрения отмечены в фазу цветения. Среди обильных фил снижение на 2,3–2,7% выявлены у филы *Actinobacteriota* в вариантах с применением биопрепаратов по сравнению с контролем без обработки. Напротив, наблюдали увеличение у минорной филы *Verrucomicrobiota* на 0,17–0,22% (до 0,90–0,95%) при интродукции микроорганизмов в ризосферу по отношению к контролю. Применение фосфорных удобрений снизило представленность протеобактерий на 1,1–1,6% по сравнению с вариантами без них (контроль и внесение биопрепаратов).

Всего в эксперименте в двух фазах развития кориандра выявлено 4123 филотипа. Разрешение метода позволило определить большое количество из них до рода и лишь некоторые до вида. Среди выявленных филотипов родов, представители которых могут проявлять патогенные свойства, не выявлено *Agrobacterium*, *Clavibacter*, *Erwinia*, *Pectobacterium*, *Xanthomonas*. Основываясь на полученных данных, можно сделать вывод, что в условиях года внесение биопрепаратов (*F. mosseae* 1–16, Микробиоком-агро) и подкормка фосфором P10 лишь незначительно повлияло на таксономический состав микробиома ризосферы кориандра.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-26-00241.



Оценка субстратной активности бактериальных изолятов промышленных экотопов г. Уфы по отношению к имазапиру

Л.Г. Анисимова¹, Н.В. Жарикова²

¹ Научно-исследовательский технологический институт гербицидов и регуляторов роста растений с опытно-экспериментальным производством АН РБ, Уфа, Россия

² Уфимский Институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра РАН
biotechexpert22@gmail.com

Имидазолиновые гербициды применяются в мире с 1984 г., являясь высокоактивными и высокоизбирательными гербицидами, контролирующими широкий спектр злаковых и двудольных сорных растений путем ингибирования ключевого фермента биосинтеза аминокислот растений — ацетолактатсинтазы. В России из всего спектра имидазолинов на сегодняшний день зарегистрированы и рекомендованы к применению только три, а именно: имазамокс, имазапир и имазетапир.

Среди трех препаратов имидазолинового ряда, имазапир представляется наиболее простым для микробной деградации, так как, в отличие от имазетапира и имазомокса, не имеет бокового заместителя в положении С-5.

Некоторые предварительные исследования были сосредоточены в основном на судьбе имазапира в окружающей среде, в почве или в воде, в то время как очень немного данных доступно по микробной деградации этого соединения.

Целью настоящего исследования было изучить активность новых бактериальных изолятов по отношению к имазапиру как единственному источнику углерода и азота.

Объектами исследований служили 17 природных бактериальных штамма, изолированных авторами из образцов почв и сточных вод, загрязненных действующими агентами гербицидов (г. Уфа, Республика Башкортостан).

Активность изучаемых штаммов по отношению к имазапиру оценивалась по наличию/отсутствию роста в минимальной солевой среде (г/л: K_2HPO_4 — 1.0; KH_2PO_4 — 3.0; NaCl — 1.0, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0.3), содержащей 200 мг/л данного соединения в качестве единственного источника углерода и азота. Культуры инкубировали в термостате при температуре 28 °С в течение 7-ми дней. Рост штаммов оценивали по оптической плотности (OD_{590}) клеточной суспензии по сравнению с контролем. Культуры, способные к росту на 200 мг/л имазапира, испытывались на большие концентрации субстрата — 400, 600 и 800 мг/л. Эксперименты проводили в трех повторностях.

В ходе исследования 5 штаммов из 17 показали высокую активность по отношению к имазапиру в концентрации 200 мг/л. При дальнейшем увеличении концентрации имазапира до 600 мг/л, включительно, также все пять культур хорошо росли. При максимальной концентрации субстрата 800 мг/л, активность проявили четыре штамма (*Bacillus subtilis* 3 Lif, *Bacillus subtilis* Lif 1, *Bacillus subtilis* Fb22, *Rhodococcus erythropolis* R2), а пятый (*Bacillus amyloliquefaciens* BGL-1) — рос слабо, что, скорее всего, связано с угнетающим воздействием такой высокой концентрации гербицида. Необходимо отметить, что ранее в работах немногих авторов, исследующих бактериальную конверсию имазапира, использовалась концентрация субстрата не выше 50 мг/л.



Применение регуляторных элементов *lux*-регулона психрофильных морских бактерий

С. В. Баженов¹, Е. С. Щеглова¹, И. В. Манухов¹

¹ ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет)»,
г. Долгопрудный
bazhenov1994@gmail.com

Регуляторные системы чувства кворума позволяют бактериям, путем обмена специфическими низкомолекулярными соединениями — аутоиндукторами (АИ), осуществлять коммуникацию и координировать поведение внутри популяции. При этом разнообразие аутоиндукторов позволяет осуществлять одновременно внутри- и межвидовую коммуникацию. Первой обнаруженной и описанной стала LuxR/LuxI система морских бактерий *Aliivibrio fischeri*. Она включает два основных компонента: белок LuxI, продуцирующий аутоиндуктор — ацильные производные гомосерина лактона, и белок LuxR, связывающийся с АИ и активирующий транскрипцию *luxICDABEG* генов. На сегодняшний день LuxR-LuxI система бактерий *A. fischeri* подробно изучена, однако гомологичная система у близкородственного вида *Aliivibrio logei* имеет существенно отличающуюся генную организацию *lux*-регулона и содержит *luxR1* и *luxR2*, свойства и роль которых пока являются предметом изучения. Мы показали, что LuxR1 и LuxR2 имеют отличия в специфичности к ацильным производным гомосерина лактона с различной длиной ацильной группы, а также имеют разные оптимальные сайты посадки на ДНК.

LuxR/LuxI системам морских бактерий были найдены применения в рекомбинантных штаммах *Escherichia coli*, в частности были сконструированы экспрессионные векторы, при использовании которых индукция экспрессии целевого гена достигается путем добавления АИ, а при наличии LuxI в клетках, возможна аутоиндукция в процессе роста [1, 2]. При этом использование регуляторных генов *luxI-luxR2* из психрофильных бактерий *A. logei*, за счет термоллабильности закодированных белков, позволяет осуществлять регуляцию в клетках *E. coli* одновременно, в зависимости от температуры и от концентрации АИ в среде: при температурах от 20 до 30 °С, экспрессия индуцируется при появлении 3-оксо-гексаноил гомосерина лактона в концентрации от 10 нМ, а при повышении температуры до 37 °С экспрессия останавливается полностью. Прекращение экспрессии достигается за счет того, что при повышенной температуре психрофильные LuxR2 и LuxI не могут обеспечить продукцию АИ в клетках *E. coli*, а сами клетки при этом эффективно метаболизируют АИ. При температурах 20–22 °С *luxI* способен обеспечить аутоиндукцию. Экспрессионные векторы были опробованы на ряде целевых генов в штаммах-реципиентах TG1, MC1061, C41(DE3) и NiCo(DE3), содержание целевого белка достигало 50% от общего клеточного белка [3, 4]. Изучение свойств LuxR1 и LuxR2, в том числе специфичность к различным АИ и последовательностям ДНК в сайтах связывания, а также их направленная модификация способны привести в дальнейшем к созданию системы ортогональных экспрессионных векторов.

[1] Nocadello S., Swennen E. F. Microb. Cell Fact. 2012, 11, 3.

[2] Bazhenov S. V., et al., Appl. Microbiol. Biotechnol., 2023, 107, p. 807–818.

[3] Патент РФ № 2810597.

[4] Заявка на патент РФ № 2023132063.

Работа выполнена при поддержке РНФ, проект 22-14-00124.



Метагеномный анализ микробиоты кишечника сельскохозяйственных животных России

Ш.А. Бегматов¹, В.В. Кадников¹, А.А. Марданов¹, А.В. Белецкий¹, А.П. Лукина²,
Л.О. Соколянская², А.В. Ракитин¹, Л.Б. Глухова², О.В. Карначук², Н.В. Равин¹

¹ Институт биоинженерии ФИЦ Биотехнологии РАН, 119071, Москва, Ленинский просп. д. 33, стр. 2

² Томский государственный университет, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36

shabegmatov@gmail.com

Микробиом желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) сельскохозяйственных животных является важным фактором для их нормальной жизнедеятельности, обеспечивая переваривание пищи и усвоение питательных веществ. Микробные сообщества ЖКТ травоядных обеспечивают гидролиз сложных растительных полисахаридов, включая целлюлозу и различные гемицеллюлозы. В последние годы исследования по изучению микробиоты кишечника сельскохозяйственных животных по всему миру ведутся активно, но в Российской Федерации такие исследования с использованием современных высокопроизводительных молекулярно-генетических методов остаются немногочисленными.

С целью изучения состава и функциональной роли микробных сообществ ЖКТ сельскохозяйственных животных нами осуществлено профилирование состава микробиоты образцов фекалий 532 животных (коровы, двугорбые верблюды, яки, маралы, овцы, лошади) из разных регионов России по генам 16S рРНК и секвенирование метагеномов для 50 животных. Среди изученных животных были как находившиеся на свободном выпасе, так и содержащиеся в частных хозяйствах и на фермах. Во всех образцах фекалий доминировали представители филумов *Firmiucutes* и *Bacteroidota*, состав и относительная численность минорных групп различались у животных разных видов. В результате секвенирования метагеномов было получено более 1.5 тыс. геномов представителей микробиоты ЖКТ. Гены гликозил-гидролаз, обеспечивающих деградацию растительной биомассы, включая целлюлозу и ксилан, были идентифицированы во всех геномах; наиболее часто встречаются семейства GH2, GH3, GH5, GH13, GH20, GH23, GH43, GH78, GH109 и GH163. Наибольшее число генов гликозил-гидролаз было обнаружено в геномах *Verrucomicrobiota*, *Bacteroidota*, *Firmiucutes* и *Fibrobacterota*. Результаты анализа резистома показали, что разнообразие и относительная численность генов устойчивости к антибиотикам зависит от условий содержания животных и максимальны у скота в крупных хозяйствах. В докладе будут представлены результаты сравнительного анализа состава микробиоты ЖКТ разных животных, его гидролитического потенциала, распространения генов антибиотико-резистентности, а также результаты геномного анализа «некультивируемых» представителей микробиоты ЖКТ.

Работа поддержана проектом Минобрнауки России (соглашение № 075-15-2021-1401 от 03.11.2021 г.).



Поиск предикторов биологической активности целлюлозолитических сообществ в их метагеномах

Г.В. Гладков¹, А.К. Кимеклис¹, А.М. Афонин¹, Т.С. Аксенова¹, О.В. Орлова¹, Т.О. Лисина¹,
Е.Е. Андронов¹

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург,
Пушкин

ruginodis@gmail.com

Ампликонное секвенирование варибельного участка гена 16S рРНК широко применяется для изучения комплексных микробных сообществ. При этом, на основе относительной представленности микроорганизма в сообществе и его дифференциальной представленности между образцами, часто делается вывод о его функциональной роли в сообществе, что является довольно сильным допущением. Распространенное решение для перехода от анализа таксономического профиля к функциональному анализу — это секвенирование не библиотек отдельных генов, а всего метагенома. В данной работе нами были использованы данные секвенирования библиотек варибельных участков гена 16S рРНК на основе прочтений Illumina Miseq и анализ метагенома по технологии длинных прочтений Oxford Nanopore MinION.

В качестве модельного целлюлозолитического сообщества были использованы результаты лабораторный опыта по разложению растительных остатков соломы овса и листового опада. В качестве затравки использовалась разложившаяся смесь субстрата и лесная почва из горизонта под лесной подстилкой. В течение полугода были отобраны три пробы на различных стадиях разложения. На каждой из стадий разложения была выделена ДНК, на основе которой был сделан таксономический анализ микробного сообщества при помощи ампликонного секвенирования библиотек генов генов 16S и фрагмента ITS2 (Illumina MiSeq) и также был получен метагеном (Oxford Nanopore MinION).

Ранее был проведен анализ метагенома на уровне отдельных углеводов активных ферментов, при этом не было показано наличие обогащения каких-либо классов CAZy в одном из субстратов [1]. На основе данной работы был предложен геномцентричный подход с поиском целлюлозолитических генов с учетом геномного контекста. Было получено 297 геномов высокого и среднего качества. Из них 254 содержали в своём составе кластеры углеводов активных генов (CGC). В свою очередь, в 188 геномах были идентифицированы локусы расщепления полисахаридов (PULs), из которых у 135 присутствовали кластеры, способные расщеплять связь β -1,4 между остатками глюкозы, характерной для целлюлозы и гемицеллюлозы. Было показано, что наибольшее количество PUL наблюдается у Bacteroidota, представителей Pseudomonadota, Actynomycetota и Bacillota. Полученные данные позволяют выделить потенциально наиболее активных целлюлолитиков из микробного сообщества. Для этого были выделены 8 микроорганизмов, содержащих аномально высокую долю целлюлозолитических кластеров относительно размера их генома — представители Bacteroidota (*Chitinophaga*, *Ohtaekwangia*), Actynobacteriota (*Streptomyces*) и Paenibacillales (*Pristimantibacillus*). Эти результаты были соотнесены с данными ампликонного секвенирования и было показано, что эти микроорганизмы субстрат-специфичны и являются мажорными представителями микробного сообщества. Это подтверждает, что субстрат-специфичность скорее ассоциирована не с наличием или отсутствием определенных классов гликозид гидролаз, а их организацией в кластеры генов.

[1] Gladkov G. V., Kimeklis A. K., Afonin A. M., et al. The Structure of Stable Cellulolytic Consortia Isolated from Natural Lignocellulosic Substrates. *IJMS*. 2022;23(18):10779. doi:10.3390/ijms231810779.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ 23-16-00147.



Сравнение эффективности штаммов дрожжей *Komagataella phaffii* как продуцентов рекомбинантных белков

М.В. Гончарова¹, М.А. Родинова², С.А. Логинова², А.К. Диких³, М.Е. Титова³, У.Д. Врачёва⁴,
Е.А. Зиновьева⁴, И.А. Петренко⁴, С.И. Рыжкова⁴, С.А. Бондарев¹, Е.В. Самбук¹, А.М. Румянцев¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

² СУНЦ «Академическая гимназия им. Д.К. Фаддеева СПбГУ», Санкт-Петербург

³ Эколого-биологический центр «Крестовский остров» ГБНОУ «СПБ ГДТЮ», Санкт-Петербург

⁴ ГБОУ гимназия № 631, Санкт-Петербург

st101515@student.spbu.ru

Дрожжи *Komagataella phaffii* являются популярной системой синтеза рекомбинантных белков. Исторически их становление в качестве организма продуцента связано с коммерческими компаниями, которые в составе наборов распространяли штаммы этих дрожжей и векторы для работы с ними. В связи с этим использование наиболее известных штаммов *K. phaffii*, в частности X-33, может быть ограничено пользовательскими соглашениями и патентами. Также в современных условиях приобретение таких штаммов отечественными исследователями может быть затруднено.

Во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ) доступно несколько штаммов дрожжей *K. phaffii*, один из которых аннотирован как Y-3489. В представленной работе проанализировали эффективность этого штамма как продуцента рекомбинантных белков в сравнении с коммерческим штаммом X-33.

В ходе исследования на основе штаммов *K. phaffii* Y-3489 и X-33 были получены штаммы, синтезирующие различные рекомбинантные белки: ксилую фосфатазу, секретируемую в среду, и зеленый флуоресцентный белок, синтезируемый внутриклеточно. Также были получены штаммы-продуценты секреторного бета-лактоглобулина. С использованием методов анализа активности кислой фосфатазы, флуоресценции репортерных белков, методов белкового электрофореза и иммуноблоттинга сравнили уровни синтеза рекомбинантных белков полученными штаммами. Все эксперименты продемонстрировали, что на основе доступного в ВКПМ штамма Y-3489 могут быть получены не менее эффективные продуценты, по сравнению с получаемыми на основе штамма X-33.

В заключение стоит отметить, что представленное исследование проводилось в том числе и в рамках проектных работ, выполняемых обучающимися школ Санкт-Петербурга. Оно не только продемонстрировало возможности эффективного применения доступного отечественным исследователям штамма Y-3489, но и позволило восьми ученикам получить практический опыт и сделать первые шаги в исследовательской деятельности.



Разнообразие и биологические свойства ризобифагов

М.К. Горбунова^{1, 2}, А.П. Козлова¹, А.С. Саксаганская¹, В.С. Мунтян¹, Б.В. Симаров¹, М.Л. Румянцева¹

¹ ФГБНУ ВНИИСХМ, Санкт-Петербург

² СПбПУ, Санкт-Петербург

gorbunovamk1@gmail.com

Клубеньковые бактерии (ризобии) формируют азотфиксирующий симбиоз с растениями семейства Бобовые, в результате которого азот атмосферы становится доступным для живых организмов. Биопрепараты на основе клубеньковых бактерий являются перспективной и экономически выгодной альтернативой минеральным азотным удобрениям. Однако в почве плотность популяций ризобий значительно зависит от наличия специфичных к ним бактериофагов (ризобифаги). Известно, что численность бактериофагов коррелирует с типом почвы, варьируя от 10^3 частиц на грамм в пустынных почвах до 10^9 частиц на грамм в лесных почвах. Морфология фаговых частиц в лесных почвах, согласно литературным данным, также показала более высокое разнообразие по сравнению с сельскохозяйственными почвами.

Целью нашей работы был анализ биологических свойств ризобифагов из почв четырёх географически различных регионов: Переднеазиатского центра происхождения культурных растений (согласно исследованиям Н. И. Вавилова, ПАГ) и трёх сельскохозяйственных регионов, различавшихся по агроклиматическим условиям. Были получены чистые культуры фагов, титр которых достигал 10^9 БОЕ/мл. Оценка биологических свойств ризобифагов, а именно спектр их литической активности и морфология образуемых ими негативных колоний, была выполнена с использованием 48 природных штаммов клубеньковых бактерий вида *Sinorhizobium meliloti* из рабочей коллекции лаборатории генетики и селекции микроорганизмов ФГБНУ ВНИИСХМ.

Ризобифаги из ПАГ показали в среднем более высокую литическую активность (в 2–5 раз) в отношении штаммов *S. meliloti*, в сравнении с фагами, выделенными из почв сельскохозяйственных регионов. Негативные колонии, образованные изучаемыми фагами, различались по диаметру (1–6 мм), прозрачности и наличию зоны лизиса. Выявлен фаг, обладающий высокой литической активностью, который мог лизировать до 60% указанных природных штаммов *S. meliloti*. Выявленные нами различия в специфичности бактериофагов по отношению к бактериям-хозяевам будут использованы для оценки возможности использования ризобифагов в качестве биопрепарата, что является одним из перспективных направлений развития сельскохозяйственной биотехнологии.

Работа выполнена при поддержке РФФ 24-26-00274.



Разработка модифицированных антимикробных пептидов путем нерационального дизайна

Е.Н. Графская¹, В.А. Манувера¹, Д.Д. Харламбиева¹, В.Н. Лазарев¹

¹ ФГБУ ФНКЦ ФХМ ИМ. Ю. М. ЛОПУХИНА ФМБА РОССИИ, Москва

grafskayacath@gmail.com

Антимикробные пептиды (АМП) представляют собой перспективную группу соединений, которые могут стать альтернативой традиционным антибиотикам [1]. Они обладают широким спектром действия и специфической активностью против микроорганизмов, что делает их ценными для борьбы против бактерий с множественной лекарственной устойчивостью и лечения хронических воспалительных заболеваний. Однако для создания эффективных АМП необходимо не только сохранить их активность, но и снизить недостатки, такие как, например, токсичность по отношению к клеткам эукариот. Для разработки новых антимикробных пептидов применяются как рациональные, так и нерациональные подходы.

В представленной работе предложен альтернативный метод дизайна антимикробных пептидов, отличающийся от традиционных подходов. С использованием мутагенеза была получена библиотека экспрессионных плазмидных векторов, кодирующих модифицированные варианты пяти известных антимикробных пептидов (мелиттин, цекропин, апидацин, пептиды Hm-AMP2 и Hm-AMP) [2–5]. Эти пептиды синтезируются клетками бактерий (*B. subtilis* и *E. coli*) в свободной форме, а не в виде слитых белков. Анализ мутантных вариантов АМП позволит отобрать наиболее активные пептиды.

Также мы предложили метод внесения изменений в структуру антимикробных пептидов с использованием различных белков, участвующих в посттрансляционных модификациях лантибиотиков. Лантибиотики представляют собой антимикробные пептиды с уникальными структурными элементами, которые значительно улучшают их стабильность и активность против микроорганизмов [6]. Для создания системы, модифицирующей антимикробные пептиды, были амплифицированы гены модифицирующих белков из различных штаммов. Полученные гены встраивали в геномную ДНК штаммов *B. subtilis* 168HT и WB008N с использованием методов геномного редактирования. Ген, кодирующий антимикробный пептид-предшественник, будет введен в модифицированные штаммы *B. subtilis* с помощью плазмидного вектора. Далее планируется создание библиотек экспрессионных плазмид, содержащих мутантные формы низина и других лантибиотиков, для последующего анализа их антимикробной активности.

- [1] Mookherjee N., et al. Antimicrobial host defence peptides: functions and clinical potential. *Nat Rev Drug Discov.* 2020;19(5):311–332.
- [2] Askari P., et al. In vitro and in vivo toxicity and antibacterial efficacy of melittin against clinical extensively drug-resistant bacteria. *BMC Pharmacol Toxicol.* 2021;22(1):42.
- [3] Pillai A., et al. Cecropin P1 and novel nematode cecropins: a bacteria-inducible antimicrobial peptide family in the nematode *Ascaris suum*. *Biochem J.* 2005;390(Pt 1):207–14.
- [4] P., et al. Apidaecins: antibacterial peptides from honeybees. *EMBO J.* 1989;8(8):2387–91.
- [5] Grafskaya E. et al. Non-toxic antimicrobial peptide Hm-AMP2 from leech metagenome proteins identified by the gradient-boosting approach. *Materials & Design* 2022; 224, 111364.
- [6] Rink R., et al. Lantibiotic structures as guidelines for the design of peptides that can be modified by lantibiotic enzymes. *Biochemistry.* 2005;44(24):8873–82.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (№ 23-15-00084).



Поиск микроорганизмов – потенциальных антагонистов возбудителя бурой гнили картофеля

Д.А. Доморацкая¹, М.В. Раменскова¹, Р.Н. Киракосян¹, С.И. Приходько²

¹ ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева

² ФГБУ «ВНИИКР»

danadomoratskaya@mail.ru

Бурая гниль картофеля вызывается бактерией *Ralstonia solanacearum*, входящей в список А2 ЕАЭС, и поражает широкий круг растений-хозяев. Поиск микроорганизмов-антагонистов для защиты урожаев от этого заболевания является актуальной задачей на данный момент. Среди методов защиты растений одним из наиболее перспективных направлений является применение антагонистов. Некоторые природно продуцируемые вещества, такие как соединения ряда тиофенов, угнетающе воздействуют на *R. solanacearum*. Среди уже изученных продуцентов — растения семейства Астровые. Проведя ряд опытов с экстрактами растений этого семейства на чистой культуре возбудителя, мы установили, что наибольшее подавляющее действие на него оказывает экстракт мордовника шароголового (*Echinops sphaerocephalus*); методом ТСХ мы показали, что количество соединений ряда тиофенов в его тканях выше, чем у других тестируемых растений. Анализ метаболитного пути тиофеноподобных веществ позволил установить, что их главными предшественниками являются полиненасыщенные жирные кислоты.

Следующим этапом был поиск микроорганизмов, имеющих кластеры генов, ответственные за выработку таких соединений. Среди них оказались как глубоководные бактерии, такие как *Shewanella sp.*, *Moritella sp.*, так и несколько представителей фитопатогенов, таких как *Dickeya sp.*, *Agrobacterium sp.*, для которых перечень растений-хозяев частично совпадает с *R. solanacearum*, но при этом они не входят в список карантинных организмов на территории ЕАЭС. MALDI-анализ метаболитов-штаммов позволяет эффективно определять потенциальных продуцентов-антагонистов. Для оптимизации имеющихся в нашей коллекции бактерий-продуцентов полиненасыщенных жирных кислот, экстракты мордовника анализируются методом ВЭЖХ для подробного изучения интересующих нас соединений. Для подтверждения их биологической активности проводятся *in vitro* эксперименты с референсным штаммом *R. solanacearum* из нашей коллекции.

Работа профинансирована ФГБУ «ВНИИКР» по теме 5.6 «Изучение карантинных и особо опасных бактериальных болезней растений и их возбудителей в целях обеспечения биобезопасности территории РФ и экспортной продукции».



Биогенные металлсодержащие наночастицы с антимикробными свойствами как компоненты полимерных нанокомпозитов

Т.А. Воейкова¹, О.А. Журавлева¹, Е.А. Никулина¹, Н.В. Цирульникова¹, А.С. Егоров¹, С.Н. Малахов¹,
В.Г. Дебабов¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт», ККНБИКСПТ, Москва

zhuravlevaolgga@gmail.com

Экспоненциально растущий спрос на получение наноматериалов привел к разработке природоподобных технологий синтеза наноструктур с применением биологических субстанций — микроорганизмов, водорослей, грибов, экстрактов растений. Природные биомолекулы — белки, липиды, полисахариды — обладают функцией восстановления ионов металлов, способны адсорбироваться на поверхности наночастиц (NPs) и стабилизировать наноматериал. Биосинтез NPs экологически безопасен, не требует больших энергозатрат и может являться дополнением к физико-химическим способам получения наноматериала. Перспективно получение биосовместимых нанокомпозитных материалов с новыми свойствами на основе полимерных матриц и биогенных металлсодержащих NPs [1].

В НИЦ «Курчатовский институт» разработана технология получения различных типов биогенных металлсодержащих NPs с использованием микроорганизмов коллекции Биоресурсного центра Курчатовского института. Функциональной характеристикой биогенных NPs является биоцидная активность в отношении широкого круга микроорганизмов. Созданы различные препаративные формы наноматериала. Разработаны методики иммобилизации NPs в состав полимерных матриц.

Биогенные NPs были включены в состав следующих полимерных материалов:

- NPsAg₂S — на сильноосновные и среднеосновные аниониты Dowex 1×1, Sephadex DEAE и SepharoseDEAE, характеризующиеся положительным зарядом поверхности.
- NPsAg₂S, NPsCdS и NPsZnS — на аминированные, хлорметилированные полистирольные и аминоксодержащие полиглицидилметакрилатные микросферы различного размера.
- NPsAg и NPsCdS — в состав всех слоев волокон нетканого материала на основе полиамида с гидрофильной поверхностью, а в матрице из гидрофобного полилактида — только в приповерхностные слои.
- NPsAg, NPsCdS — в состав эпоксидной смолы, полиимидной пленки, акриловых красителей.
- NPsAg — в хелатные соединения меди и цинка с фосфон- и карбоксилсодержащими лигандами.
- NPsAg — в полимерные матрицы на основе бутилметакрилата.

Показано, что высокий уровень антимикробной активности биогенных NPs сохраняется при включении в состав полимерных материалов, что свидетельствует о возможности модификации полимерного носителя с целью создания биосовместимого биоцидного нанокомпозитного материала нового типа для применения в биомедицине, промышленности в наряду с NPs, полученными традиционными физико-химическими способами.

[1] Kumar A., Shah S. R., Jayeoye T. J. et al. // Front. Nanotechnol. 2023. V. 5. 1175149. <https://doi.org/10.3389/fnano.2023.1175149>

Работа проведена в рамках выполнения Тематического плана НИЦ «Курчатовский институт» № 5П.3.5.



Влияние дефицита фосфата на экспрессию генов в клетках дрожжей *Komagataella phaffii*

В.В. Иштуганова¹, А.В. Сидорин¹, А.С. Макеева¹, Е.В. Самбук¹, М.В. Падкина¹, А.М. Румянцев¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9
valeriishtuganova@gmail.com

В живых клетках фосфор является важнейшим компонентом нуклеиновых кислот, молекул АТФ, фосфолипидов, фосфопротеинов и других органических соединений. Клетки обладают регуляторными системами, позволяющие им эффективно реагировать на доступность источников фосфора. Метаболизм фосфора и системы его регуляции хорошо изучены у модельного объекта — дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Сравнение этих данных с другими видами дрожжей позволяют исследовать разнообразие регуляторных механизмов и процессы их эволюции.

Дрожжи *Komagataella phaffii* активно применяются в качестве продуцента разнообразных рекомбинантных белков. В связи с такой высокой практической значимостью особенности регуляции генов и метаболических путей у этих дрожжей активно изучаются.

В данной работе с помощью транскриптомного анализа было исследовано влияние недостатка фосфора на экспрессию генов в клетках дрожжей *K. phaffii*. Полученные данные показали, что в ответ на дефицит фосфата в клетках увеличивались уровни мРНК у 4% генов. Повышалась экспрессия генов, кодирующих транспортеры фосфата, фосфатазы и регуляторные белки фосфатного метаболизма. Среди активированных генов немалую долю составили гены, вовлеченные в процессы гликолиза и пентозофосфатного пути. Также значительную группу генов, активированных в условиях голодания по фосфату, образовали гены, связанные с ответом клеток на окислительный стресс.

Снижение уровней мРНК в ответ на дефицит фосфата наблюдали у 6% генов. Сильно снижалась экспрессия генов рибосомных белков, необходимых для обеспечения процесса трансляции. Подавлялись анаболические процессы, такие как, биосинтез жирных кислот и аминокислот. В условиях голодания также репрессировались гены, кодирующие белки электрон-транспортной цепи митохондрий.

В ходе работы были выявлены новые промоторы, регулируемые в зависимости от наличия фосфата в среде. Они в дальнейшем могут быть использованы для экспрессии чужеродных генов в клетках *K. phaffii*. Полученные данные позволяют оптимизировать условия культивирования и повысить эффективность синтеза рекомбинантных белков с использованием дрожжей *K. phaffii*.

Исследования проведены при поддержке гранта Министерства образования РФ на создание научного центра мирового класса «Агротехнологии будущего» (соглашение No 075-15-2022-322 от 22.04.2022).



Метагеномный анализ микробного сообщества грязевого вулкана Керченского полуострова

В.В. Кадников¹, Ш.А. Бегматов¹, А.В. Марданов¹, А.В. Белецкий¹, Н.В. Равин¹

¹ Институт биоинженерии им. К.Г. Скрябина, ФИЦ Биотехнологии РАН
vkadnikov@bk.ru

Грязевые вулканы представляют собой геологические образования в виде конусообразных возвышений с кратером, через который на поверхность выделяется грязевой флюид и газы. Они поступают через разветвленную сеть разломов, которая может достигать глубины нескольких километров. Таким образом, грязевые вулканы являются «окнами» в глубинную подземную биосферу. Присутствие различных неорганических и органических соединений, которые могут служить донорами и акцепторами электронов в микробном метаболизме, создает условия для развития разнообразных сообществ микроорганизмов. Микробные сообщества подводных грязевых вулканов хорошо исследованы в связи с их влиянием на глобальный круговорот метана. В то же время микробиота наземных грязевых вулканов изучена гораздо хуже, в большинстве работ анализировался лишь состав микробных сообществ. Применение метагеномных подходов для изучения микробного разнообразия наземных грязевых вулканов стало возможным сравнительно недавно.

Мы исследовали микробное сообщество трех наземных грязевых вулканов, расположенных на Керченском полуострове, Крым. В результате секвенирования метагенома собрано 37 геномов микроорганизмов-членов сообщества с полнотой более 80%. Доминирующими видами микроорганизмов были археи — ANME-3 (*Methanosarcinaceae*), ANME-2d (*Ca. Methanoperedens_A*) и ANME-2a-2b («*Candidatus Methanocomedenaceae*»). Анализ этих геномов выявил полный путь анаэробного окисления метана. Также собраны геномы архей кандидатных филумов p_EX4484–52 и p_B1Sed10–29, а также класса с E2 филума *Thermoplasmata*, которые до настоящего времени оставались неохарактеризованными. При анализе генома археи филума p_EX4484–52 были выявлены полные наборы генов, отвечающих за гликолиз и восстановительный пентозофосфатный путь. Археи филума p_EX4484–52 были обнаружены в основном в грязевых вулканах и сипах. Для бактерий некультивируемых филогенетических линий высокого уровня получены геномы представителей кандидатного филума *Marinisomatota* (SAR406), четырех семейств порядка *Desulfuromonadales*, двух семейств *Desulfobacterales* и одного нового семейства этого порядка, семейства f_UBA5619 порядка *Syntrophales* (все — *Desulfobacterota*), а также семейства f_UBA5603, порядка o *Izomoplasmatales* (*Firmicutes*, класс *Bacilli*). Известно, что ANME археи растут в консорциумах с представителями *Desulfobacterota*, осуществляющими восстановление сульфата, нитрата или оксидов металлов, поэтому анализ этих геномов позволит установить вероятных бактериальных партнеров при анаэробном окислении метана. Результаты анализа этих геномов будут представлены в докладе.

Данная работа была выполнена при поддержке Российского научного фонда № 22-14-00178.



Применение метода лазерной инженерии микробных систем для выделения эндофитных микроорганизмов из клубеньков арктических дикорастущих бобовых растений

Д.С. Карлов¹, В.С. Чепцов^{2, 3}, П.В. Гуро¹, А.Л. Сазанова¹, И.Г. Кузнецова¹, А.А. Белимов¹,
В.С. Жигарьков³, Н.В. Минаев³, В.И. Юсупов³, В.И. Сафронова¹

¹ ФГБНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург

² Факультет почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва ЗИФТ РАН ФНИЦ «Кристаллография и фотоника»
РАН, Москва

ds.karlov@arriam.ru

В основе технологии лазерной инженерии микробных систем (ЛИМС) лежит индуцированный лазерным импульсным излучением перенос субстрата, содержащего клетки микроорганизмов, на акцепторную подложку [1, 2]. Целью работы было изучение генетического разнообразия эндофитных и симбиотических микроорганизмов, выделенных из клубеньков арктических дикорастущих бобовых растений *Oxytropis sordida*, *O. taimyrensis*, *Astragalus frigidus* и *A. tugarinovii*, с помощью стандартного метода посева гомогенизированных клубеньков на твердую питательную среду и метода ЛИМС. Идентификацию изолятов проводили с помощью секвенирования генов 16S рРНК. Численность бактерий, полученная стандартным методом и ЛИМС, была в ранге 10^2 – 10^4 и 10^5 КОЕ/мл, соответственно. В результате работы с помощью стандартного метода и ЛИМС были выделены эндофитные микроорганизмы, отнесенные к 12 и 30 бактериальным родам, соответственно. Из них стандартным методом были получены изоляты, отнесенные к родам *Rhizobium*, *Phyllobacterium* и *Mesorhizobium*, представители которых способны формировать азотфиксирующий симбиоз с различными бобовыми растениями, тогда как методом ЛИМС были выявлены представители ризобияльного рода *Methylobacterium*. Таким образом, применение технологии ЛИМС позволило существенно расширить разнообразие выделенных из клубеньков бобовых растений эндофитных микроорганизмов, в т.ч. микросимбионтов, и создать коллекцию потенциально ценных штаммов для применения в сельском хозяйстве арктических регионов России.

[1] Gorlenko M. V., Chutko E. A., Churbanova E. S., Minaev N. V., Kachesov K. I. et al. Laser microsampling of soil microbial community. J Biol Eng 2018; 12:27.

[2] Yusupov V. I., Gorlenko M. V., Cheptsov V. S., Minaev N. V., Churbanova E. S., Zhigarkov V. S., et al. Laser engineering of microbial systems. Laser Phys Lett 2018; 15(6):065604.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проекты №20-76-10042 — в части идентификации бактерий и выделения стандартным методом, № 20-14-00286 — в части применения ЛИМС).



Новые пробиотические штаммы лактобактерий из ферментированного силоса

А.Р. Каюмов¹, Е.В. Никитина², А.М. Ежкова³, В.О. Ежков⁴, Е.А. Гаврилова¹, Д.Р. Хуснутдинова¹,
М.И. Маркелова¹, Д.Р. Яруллина¹

¹ ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», г. Казань

² ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет», г.Казань

³ ФГАОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», г. Казань

⁴ ФГБНУ «Татарский научно-исследовательский институт агрохимии и почвоведения», г. Казань

kairatr@yandex.ru

В связи с трендом на переход к органическому сельскому хозяйству, интенсивно развивается разработка препаратов-пробиотиков, использование которых будет способствовать обеспечению биологической защиты и повышению продуктивности сельскохозяйственных животных и птиц как альтернатива антибиотикам. Особое значение биологические препараты приобретают в связи с усиливающейся техногенной и антропогенной нагрузкой на организм животных, особенно в условиях промышленного содержания.

Из ферментированного силоса выделен ряд бактерий семейства Lactobacillaceae, отобраны штаммы с высокими антагонистической активностью, адгезивностью, устойчивостью к факторам ЖКТ и кислотообразующей активностью. Прочитаны, собраны и аннотированы геномы пяти штаммов, для некоторых штаммов в геномах идентифицированы потенциальные гены противомикробных пептидов, что с данными антимикробной активности *in vitro*. Исследован эффект внесения данных штаммов в качестве кормовой добавки на кишечную микрофлору, морфологические показатели и иммунного статуса перепелов и крыс. Выявлено снижение количества условно-патогенной микрофлоры и повышение относительного содержания нормофлоры. Показано влияние внесения пробиотических штаммов на вес птиц и животных, а также на показатели крови и состояние внутренних органов.

Работа выполнена в рамках программы Приоритет 2030.



Сукцессия в микробном ассоциативном консорциуме БАГС

А.К. Кимеклис¹, Г.В. Гладков¹, О.В. Орлова¹, Т.О. Лисина¹, Е.Е. Андронов¹

¹ ФГБНУ ВНИИСХМ, Санкт-Петербург

kimeklis@gmail.com

Микробный ассоциативный консорциум БАГС (биологически активный грунт) является твердофазным препаратом сообщества микроорганизмов, формирующегося в процессе компостирования торфо-минерально-соломистого субстрата и способного осуществлять конверсию различных труднодоступных органических соединений (целлюлозы, гемицеллюлозы, лигнина, гуминовых соединений, а в модифицированном виде — ксенобиотиков, в частности, пестицидов и фенолов). Ключевым элементом консорциума являются целлюлозолитические микроорганизмы, а также сопутствующие им гетеротрофные бактерии, использующие продукты гидролиза полисахаридов. Препарат готовится в течение нескольких месяцев по типу накопительной культуры на основе нейтрализованного верхового торфа с внесением источника растительных полисахаридов (соломы, листового опада), минеральных удобрений и маточного материала в виде ранее приготовленного БАГС. В результате секвенирования ампликонных библиотек маркерных генов для прокариот (16S рРНК) и эукариот (ITS2) было проанализировано микробное сообщество препарата БАГС на основе соломы овса и листового опада на разных стадиях его приготовления.

Охарактеризована коровая компонента микробного сообщества разных вариантов препарата БАГС, в котором наряду с целлюлозолитиками наблюдается значительное количество бактерий, относящихся к плохо культивируемым и слабо изученным микроорганизмам. Было показано, что при сохранении единой методики приготовления препарата микробная часть сообщества постоянна при приготовлении БАГС на различных целлюлозных субстратах (солома или листья), но внесение торфа влияет на появление новых микроорганизмов в сообществе. Особенно данный эффект проявлялся для грибной компоненты сообщества.

Исследование динамики сообществ при помощи ампликонного секвенирования на различных субстратах показало общие тенденции с агрохимическими и классическими методами. Были выявлены ранняя фаза готовности препарата (до второго месяца) и поздняя (после пятого месяца). Наибольшие отличия между сообществами оказались выражены на ранней стадии сукцессии, для сообщества культивируемого на соломе овса выделены бактериальные кластеры потенциальных целлюлозолитиков. Начиная с пятого месяца, происходит стабилизация и увеличение сходства сообществ препаратов БАГС с разными субстратами.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 23-16-00147.



Геномный анализ как инструмент реконструкции бактериального метаболизма на примере *Achromobacter insolitus* LCu2

Е.В. Крючкова¹

¹ Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов-Федерального исследовательского центра «Саратовский научный центр Российской академии наук»

kryu-lena@yandex.ru

Рост числа секвенированных бактериальных геномов привел к всплеску исследований, связанных с метаболической реконструкцией отдельных бактериальных видов. Представление о типах и взаимодействии бактериальных путей катаболизма химических соединений необходимо для создания эффективных биотехнологий, в частности, для ремедиации и восстановления деградированных территорий. В работе осуществляли метаболическую реконструкцию путей деградации ароматических и фосфорорганических соединений штаммом *Achromobacter insolitus* LCu2 *in silico*. Проводили сравнение полученных данных с фенотипическими свойствами бактерий.

Геномный анализ штамма *A. insolitus* LCu2, выделенного с корней люцерны, показал наличие пластичного метаболизма по отношению к ароматическим компонентам. Выявлена гомология между белковыми последовательностями LCu2 и ранее описанными ферментами, участвующими в гидроксировании бифенилов (BphA1), бензоата и толуола (BenA-XylX); салициловой (NagG), антралиновой (AntA), ванилиновой (VanA) и фталевой (OphA) кислот; фенилпропаноидов (HsaE). Выявлены диоксигеназы, участвующие в каталитическом расщеплении ароматического кольца в центральных метаболитах, таких как катехол (CatA), гентисат (GtdA), гомогентисат (HmgA), фенилаланин (UgiD), гидрохинон (PnpCD). Показано, что *A. insolitus* LCu2 растёт на различных фенилпропаноидах (коричной, кофейной и ванилиновой кислотах), обладающих противомикробными свойствами и выполняющих в растениях защитную и сигнальную функции, что может говорить о ризосферном образе жизни. Штамм LCu2 использовал глифосат в качестве источника фосфора, обладал высокой устойчивостью к меди. Предположительные биохимические пути, отвечающие за деградацию органофосфонатов, коричной кислоты и устойчивость к меди предсказаны.



Влияние азотного голодания на экспрессию генов в дрожжах *Komagataella phaffii*

А.С. Макеева¹, А.В. Сидорин¹, Е.В. Самбук¹, А.М. Румянцев¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург
st055791@student.spbu.ru

Метилотрофные дрожжи *Komagataella phaffii* (*Pichia pastoris*) являются важным организмом-продуцентом, который широко используется для производства рекомбинантных белков в рамках научных исследований, а также в промышленности и фармацевтике. Основные преимущества *K. phaffii* включают в себя наличие собственных сильных и строго регулируемых промоторов, а также эффективной системы секреции, упрощающей процедуру очистки рекомбинантных белков. Наконец, для *K. phaffii* доступен разнообразный и активно расширяющийся спектр инструментов для оптимизации синтеза белков.

Практическая значимость и большой биотехнологический потенциал *K. phaffii* способствуют активному изучению этих дрожжей, и в последнее время они приобретают популярность в качестве модельного объекта. Исследования особенностей метаболизма и регуляции генов у *K. phaffii* главным образом интересны в сравнении с хорошо изученным модельным объектом — дрожжами *Saccharomyces cerevisiae*, поскольку это позволит лучше понять процессы эволюции регуляторных систем у этой группы организмов.

В данной работе мы изучили влияние недостатка азота на транскрипцию генов в клетках *K. phaffii* в присутствии метанола как единственного источника углерода. Было показано, что в условиях азотного голодания в клетках активировалась экспрессия ряда генов, кодирующих транспортеры аммония, аминокислот и альтернативных источников азота. Также повышалась экспрессия генов ферментов, задействованных в обмене дикарбоновых аминокислот и реакциях пути Эрлиха. В то же время наблюдалась репрессия генов биосинтеза и транспорта серосодержащих аминокислот — метионина и цистеина, а также подавлялся целый спектр генов, необходимых для трансляции. Помимо этого, недостаток азота приводил к снижению экспрессии некоторых генов метаболизма метанола, синтеза витаминов и эргостерола, но активировал гены ферментов гликолиза и биосинтеза липидов. В результате сравнения полученных данных об ответе клеток *K. phaffii* на азотное голодание с известными данными для *S. cerevisiae* были обнаружены как сходные элементы, так и особенности, свойственные только *K. phaffii*.

Работа выполнена при поддержке гранта СПбГУ (ID Pure 115624290).



Противоопухолевый препарат на основе химерного белка L-метионин-γ-лиазы и S3 домена вирусного ростового фактора

Н.А. Бондарев¹, Д.Ф. Багаева¹, М.М. Бубен¹, И.С. Охрименко¹, В.С. Покровский², И.В. Манухов¹

¹ МФТИ, Долгопрудный

² НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, Москва

manukhovi@mail.ru

Неспособность пролиферировать на среде с недостатком метионина, это дефект метаболизма присущий многим типам раковых клеток человека. Наиболее эффективным методом снижения концентрации метионина является необратимая ферментативная деградация с помощью L-метионин-γ-лиазы (МГЛ). Известна способность МГЛ снижать концентрацию метионина как *in vitro* [1] так и *in vivo* [2, 3].

Однако, как препарат, фермент имеет ряд недостатков. Обладая общим биохимическим действием, МГЛ лишает не только раковые, но и здоровые клетки метионина. Помимо этого, вызывает воспаленные печени и иммунный ответ.

Для получения специфичного к раковым клеткам препарата нами был создан химерный МГЛ, слитый с S3 доменом фактора роста вируса оспы, связывающимся с рецептором эпидермального ростового фактора (EGFR). Для этого к гену *megL*, кодирующему МГЛ из *Clostridium sporogenes*, была пришта последовательность, кодирующая S3 домен, соединённый с С-концом МГЛ через мостик из четырёх глицинов: GGGGRCSHGYTGIRCQAVVL. Экспрессия данной конструкции в клетках *Escherichia coli* позволяет получить 0,5 г/л целевого белка и выделить его с 95% чистотой. Полученный белок МГЛ-S3, согласно данным, полученным с помощью малоуглового нейтронного и рентгеновского рассеяния, в растворе образует преимущественно октамеры, в то время как природный МГЛ является тетрамером. При этом МГЛ-S3 обладает удельной метиониназной активностью, сравнимой с нативным белком МГЛ, такой же растворимостью и температурой денатурации.

С помощью флуоресцентной микроскопии было показано, что химерный белок адгезируется на EGFR-положительных клетках SHSY-5Y и A431, но не на EGFR-отрицательных клетках HEK293T. Этот результат был подтверждён с помощью МТТ-теста (с отмывкой и без отмывки от фермента) на тех же клеточных линиях [4].

Исследование на клеточных линиях SK-BR-3, H1299, SH-SY5Y и HCT116 показало, что MGL-S3 вызывает подавление активности киназы ERK, а также снижает экспрессию EGF и EGFR и обладает синергией с ингибитором киназы гефитинибом в линии немелкоклеточной карциномы легкого H1299 [5].

[1] Tan Y. et al. Anticancer Res. 2010. 30(4)1041–6.

[2] Lu S. & Epner D. E. Nutr Cancer. 2009.38:123–30. doi: 10.1207/S15327914NC381_17.

[3] Pokrovsky V. S., et al. Invest New Drugs. 2019. doi:10.1007/s10637–018–0619–4.

[4] Bondarev N. A., et al. Methionine gamma lyase fused with S3 domain VGF forms octamers and adheres to tumor cells via binding to EGFR. Biochem Biophys Res Commun. 2023 Nov 25;691:149319. doi: 10.1016/j.bbrc.2023.149319.

[5] Bondarev N. A. et al. MGL S3 Chimeric Enzyme Drives Apoptotic Death of EGFR-Dependent Cancer Cells through ERK Downregulation. Int. J. Mol. Sci. 2022, 23, 12807. <https://doi.org/10.3390/ijms232112807>.

Исследование поддержано Минобрнауки РФ (FSMG-2021–0002, соглашение 075-03-2024-117).



Характеристика штаммов дрожжей, используемых в отечественном виноделии, с помощью молекулярных методов

А.В. Белецкий¹, Т.Н. Танащук², М.Ю. Шаламитский², Н.В. Равин¹, А.В. Марданов¹

¹ Институт биоинженерии, ФИЦ Биотехнологии РАН, г. Москва

² Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия „Магарач“ РАН, г. Ялта

mardanov@biengi.ac.ru

Виноделие – многостадийный процесс, протекающий с участием эндогенной микрофлоры ягод винограда и вносимых селекционных культур дрожжей, в основном *Saccharomyces cerevisiae*, но также используют и не сахаромицетные виды дрожжей. В зависимости от региона и технологии производства вина, используют различные селекционные штаммы дрожжей, отличающиеся физиологическими и генетическими характеристиками. Особыми свойствами обладают штаммы дрожжей, используемые при приготовлении вин типа Херес. Эти штаммы способны расти в виде пленки на поверхности сброженного виноматериала, при этом их метаболизм переключается с ферментативного на окислительный. В производственных условиях хересные дрожжи подвергаются стрессовым воздействиям, таким как высокие концентрации спиртов и альдегидов, окислительный стресс, недостаток питательных веществ и т. д., что ставит вопрос о стабильности их геномов.

Объектами исследования являлись промышленно ценные штаммы винных дрожжей из коллекции микроорганизмов виноделия «Магарач» (КМВ «Магарач»), а также производственные пленки хересных дрожжей, используемых несколько десятилетий. Мы просеквенировали геномы используемых в виноделии в России винных и хересных штаммов дрожжей из разных географических регионов. Сравнительный анализ геномов винных и хересных дрожжей показал, что все хересные штаммы образуют отдельный кластер в группе винных дрожжей. Метагеномный анализ производственных хересных пленок показал, что в них доминирует коллекционный штамм *S. cerevisiae* I-329, в минорных количествах присутствуют *Pichia membranifaciens* и *Malassezia restricta*. Среди бактерий были обнаружены *Oenococcus oeni* и *Lentilactobacillus hilgardii*. Сравнительный анализ генома штамма I-329, хранящегося в коллекции, и геномов дрожжей, собранных из метагеномов производственных пленок, выявил лишь несколько десятков однонуклеотидных полиморфизмов, что свидетельствует о генетической стабильности штамма в условиях длительного роста. Также были проанализированы штаммы не сахаромицетных штаммов дрожжей видов *Schizosaccharomyces pombe*, *Lachancea thermotolerans* и *Torulasporea delbrueckii*. В докладе будут представлены результаты сравнительного анализа отечественных и зарубежных винных штаммов дрожжей. Полученные результаты дают новую информацию о генетическом разнообразии винных и хересных дрожжей и их адаптации к специфическим условиям виноделия.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках соглашения № 075-15-2022-318 от 20.04.2022 о предоставлении гранта в форме субсидий из федерального бюджета на осуществление государственной поддержки создания и развития НЦМУ «Агротехнологии будущего».



Набор промоторов для настраиваемой суперпродукции ферментов в бактериях *Rhodococcus*

А.Д. Новиков¹, А.О. Шемякина¹, Е.Г. Гречишникова¹, Т.И. Калинина¹, К.В. Лавров¹, А.С. Яненко¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт» Курчатовский геномный центр, 1-й Дорожный пр. 1, Москва
alexm19@mail.ru

Бактерии *Rhodococcus* являются одной из перспективных платформ для применения в области биодеградации и биосинтеза различных соединений. Однако конструирование промышленно значимых штаммов-продуцентов затруднено из-за недостаточного количества функционально охарактеризованных активных промоторов.

Производный от штамма *Rhodococcus rhodochrous* M33 с удалёнными генами нитрилгидратазы был использован для изучения функционирования промоторов Ptuf (фактор элонгации Tu) и Psod (супероксиддисмутаза) из *Corynebacterium glutamicum* ATCC13032, Pscr1 (изоцитратглиаза), из *Rhodococcus erythropolis* PR4 и Pnh (нитрилгидратаза), из *R. rhodochrous* M8. Уровни активности, возможности регуляции и зависимые от фазы роста профили активности этих промоторов были изучены с помощью репортёрного гена ациламидазы из *R. qingshengii* TA37. Активности промоторов значительно различались (Pscr1 < Psod << Ptuf < Pnh), охватывая 103-кратный диапазон, и наиболее активные Pnh и Ptuf продуцировали до 30–50% ациламидазы от растворимых клеточных белков. Количественные оценки мРНК и целевого белка позволяют предположить уровень продукции Pnh, близкий к теоретическому пределу экспрессии в бактериальной клетке. При этом, в отличие от Ptuf (2-кратное изменение), возможности регуляции Pnh, Pscr1 и Psod были шире (6-кратное для Psod, 44-кратное для Pscr1 и 79-кратное для Pnh). Промоторы обладали четырьмя различными профилями активности, включая три с пиком активности на разных фазах роста и один с постоянной активностью на протяжении всех фаз роста. Ptuf и Pscr1 не меняли свой профиль активности при разных условиях роста, тогда как профили Psod и Pnh менялись в зависимости от среды для выращивания.

Результаты позволяют осуществлять гибкое конструирование штаммов *Rhodococcus* с регулируемой суперпродукцией целевых рекомбинантных белков, достигающей уровня экспрессионной системы с промотором фага T7 в *E. coli*.

Работа осуществлена при финансовой поддержке Государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».



Ответ клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* на синтез аптамеров РНК

М.В. Падкина¹, У.Р. Аль Шанаа¹, А.В. Сидорин¹, Е.В. Самбук¹, А.М. Румянцев¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

m.padkina@spbu.ru

Аптамеры представляют собой синтетические олигонуклеотиды с определенной трехмерной структурой, которые с высокой аффинностью и специфичностью взаимодействуют с различными мишенями, начиная от молекул и заканчивая клетками. Благодаря этим особенностям аптамеры используются в фундаментальных исследованиях, а также в прикладных целях [1]. В настоящее время основным способом получения аптамеров РНК является химический или ферментативный синтез *in vitro*, что связано с высокой стоимостью и низкой производительностью. Для синтеза аптамеров РНК *in vivo* могут быть использованы дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Их преимуществом является отсутствие компонентов РНК-интерференции, что продлевает период существования молекул РНК *in vivo*. Кроме того, использование эукариотических микроорганизмов для синтеза аптамеров РНК позволяет оценивать поведение, свойства, стабильность таких аптамеров у высших эукариот.

В данной работе был проведен синтез флуоресцентного аптамера РНК в клетках дрожжей *S. cerevisiae*. Путем анализа транскриптома полученного штамма было исследовано влияние синтеза больших количеств РНК аптамера на экспрессию генов. Показано, что синтез аптамера приводит к изменению уровня РНК 115 генов. У 67 генов наблюдали повышение уровня РНК, у 48 генов — снижение. При этом исследованные гены кодировали не только белки, но и разные виды РНК.

Проведенный анализ обнаруженных групп дифференцированно экспрессирующихся генов позволяет предположить, что основной эффект синтеза РНК аптамера связан с изменением активности РНКазы III. Появление в клетках продуцента больших количеств молекул РНК, характеризующихся сложной пространственной структурой, нарушает процессинг различных типов РНК, в котором участвует РНКазы III.

Разработанные подходы и полученные результаты могут быть в дальнейшем использованы для эффективного синтеза в клетках дрожжей различных вариантов аптамеров РНК, представляющих интерес как для биологии, так и для медицины.

Исследования проведены при поддержке гранта Министерства образования РФ на создание научного центра мирового класса «Агротехнологии будущего» (соглашение № 075-15-2022-322 от 22.04.2022).

[1] Shanaa O. et al. *Molecules*. 2021;26(5):1422 (1–19)



Филогенетический анализ алкан монооксигеназ AlkB-типа бактерий рода *Rhodococcus*

К.В. Петриков¹, Т.Н. Абрамова¹, И.Ю. Позднякова-Филатова¹

¹ ИБФМ им. Г.К. Скрыбина РАН – обособленное подразделение ФИЦ ПНЦБИ РАН, Московская область, г. Пущино
petrikov_kv@pbcras.ru

Одними из ключевых ферментов бактериального метаболизма алканов являются негемовые мембранные алкан монооксигеназы (АМО AlkB-типа). Гены *alkB* широко распространены в природных микробиомах, как в экотопях с высоким содержанием алканов, например, подверженных загрязнению нефтью или нефтепродуктами, так и в тех, где алканы в свободном виде не обнаруживаются. С тех пор как впервые описано несколько подтипов генов *alkB*, были обнаружены новые представители группы, что делает актуальной задачу пересмотра их классификации на основе современных баз данных. Перспективным объектом выглядит род *Rhodococcus*: многие его представители являются углеводородокисляющими бактериями, и для них характерно наличие нескольких гомологичных копий *alkB* в одном геноме.

В результате выполненного анализа, мы предлагаем выделить три основных группы АМО AlkB-типа. Первая включает АМО, гены которых локализованы в кластере с генами рубредоксинов, рубредоксин редуктазы и регуляторного белка. Встречаются кластеры двух типов: либо полный, содержащий все перечисленные гены, либо частичный, без редуктазы. Характерной чертой частичного кластера является то, что он локализован в высококонсервативном регионе «*manA-ahcY*», включающем гены маннозо-6-фосфат изомеразы *manA* и аденозил гомоцистеиназы *ahcY*. В отличие от него окружение полного кластера довольно вариабельно.

Вторая группа АМО формирует выраженную кладу с самой низкой среди всех остальных вариабельностью последовательностей и отличающуюся тем, что все соответствующие гены расположены в регионе «*manA-ahcY*», но рядом с ними не встречается ни одного другого гена из *alkB*-кластера.

Третья, самая разнообразная группа включает все прочие последовательности. В ней можно выделить большое число подтипов, многим из которых соответствует своё генетическое окружение.

Распределение подтипов АМО оказалось видоспецифичным, что говорит в пользу подходов, в которых предлагалось использовать гены *alkB* для дополнительной таксономической идентификации родококков. При этом почти у всех видов родококков встречаются АМО первой группы. Количество генов *alkB* разных подтипов в одном геноме может достигать до 5 (у *R. qingshengii*). Также обнаружены некоторые представители, у которых отсутствуют гены *alkB*. Выявленные закономерности свидетельствуют о большом разнообразии АМО в пределах одного единственного рода. Можно предположить, что обобщённые подходы, сравнивающие АМО сразу на уровне разных филумов, будут значительно занижать обнаруживаемое разнообразие. Это видно в некоторых работах, когда родококки оказываются представлены всего одним-двумя подтипами AlkB.

Скорее всего, такому генетическому разнообразию соответствует и функциональное разнообразие. Это может отражаться как в небольших отличиях, например, в специфичности к длине окисляемых алканов, так и в изменении основных физиологических функций. Для точного установления роли различных АМО требуются дальнейшие исследования.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-00192, <https://rscf.ru/project/23-24-00192/>.



Поиск новых постбиотиков с использованием омиксных технологий для применения в аквакультуре

Д. А. Резникова¹, А. А. Ватлин²

¹ Институт Общей Генетики им. Н. И. Вавилова РАН, Московский физико-технический институт

² Институт Общей Генетики им. Н. И. Вавилова РАН

reznikova.da@phystech.edu

В результате сельскохозяйственной и промышленной деятельности возрастает загрязнённость водоёмов низкими дозами ксенобиотиков, которые оказывают пагубное влияние на аквакультуру [1]. В последнее время для уменьшения этого эффекта используют пробиотики и, как результат их деятельности, постбиотики.

Выбор штамма *Levilactobacillus brevis* 47f из коллекции лаборатории генетики микроорганизмов основывался на его антиоксидантных и адаптогенных свойствах, доказанных в предыдущих исследованиях [2]. Целью работы было исследование возможности применения культуры как адаптогена при воздействии низких доз ксенобиотиков в аквакультуре, а также выявление потенциальных молекулярных механизмов её действия.

В данном исследовании был проведён комплексный анализ штамма, подверженного влиянию различных доз пластификатора бисфенол А. В результате транскриптомного анализа было выявлено изменение экспрессии ряда генов, в том числе генов транспортных белков, генов *araA*, *araB*, *araC*, задействованных в метаболизме арабинозы и гена *oppA*, участвующий в защитных механизмах к различным стрессам. Методом хромато-масс-спектрометрии был проведён протеомный анализ штамма и его продуктов, получено изменение спектра белков на фоне стресса. Метаболомный анализ водной и органической фазы культуральной жидкости штамма способствовал выделению классов метаболитов, которые предположительно задействованы в его адаптогенных свойствах.

Таким образом, применение омиксных технологий способствовало поиску молекулярных механизмов действия штамма *L. brevis* 47f и выявлению причин его адаптогенных свойств при воздействии различных доз ксенобиотиков.

[1] Rohani M. F. Pesticides toxicity in fish: Histopathological and hemato-biochemical aspects — A review // Emerging Contaminants. 2023. Vol. 9, № 3. P. 100234.

[2] Marsova M. et al. A bioluminescent test system reveals valuable antioxidant properties of lactobacillus strains from human microbiota // World J Microbiol Biotechnol. 2018. Vol. 34. № 2. P. 27.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 23-16-00123).



Геномный анализ новых хозяйственно-ценных изолятов группы *Bacillus*, выделенных из различных географических регионов

М.Н. Романенко^{1,2}, А.Е. Шиков^{1,2}, А.А. Нижников^{1,2}, К.С. Антонец^{1,2}

¹ ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

m.romanenko@arriam.ru

Биопестициды — это препараты, используемые для защиты растений от вредителей и болезней, содержащие в своем составе живые организмы в качестве активных компонентов. Так как механизмы действия биопестицидов основаны на тех же принципах, что уже используются в природе, они наносят минимальный вред окружающей среде, что позволяет применять их в экологически безопасных системах земледелия, закрытом грунте, охраняемых природных территориях и рекреационных зонах. Представители группы *Bacillus* являются одними из наиболее широкоиспользуемых бактерий при производстве биопестицидов. Поиск новых штаммов, обладающих хозяйственно-ценными свойствами, необходим для расширения ассортимента экологически безопасных средств борьбы с вредителями. Из природных образцов (почва, листовая опад, мох, мертвые насекомые), отобранных в пределах 8 различных географических регионов, нами были выделены и идентифицированы 150 новых изолятов, принадлежащих к различным родам в пределах группы *Bacillus*. Для каждого из них оценивали способность продуцировать кристаллические токсины на стадии споруляции, проводили анализ морфологии вегетативных клеток, спор и колоний. Для выявления потенциально полезных для сельского хозяйства свойств нами была протестирована бактерицидная и фунгицидная активности изолятов с помощью «платформы Ваксмана» в отношении 8 фитопатогенов. 23 изолята продемонстрировали антибактериальную активность в отношении патогенов сельскохозяйственных культур. Геномный анализ осуществлялся с использованием разработанного нами программного конвейера BacPack. Было обнаружено большое видовое разнообразие выделенных изолятов, в том числе были идентифицированы различные штаммы *Bacillus thuringiensis*, *B. mycoides*, *B. wiedmannii*, *B. pumilus*, *Lysinibacillus parviboronicapiens*, *Peribacillus frigiditolerans*. В геномах изолятов были выявлены различные варианты инсектицидных токсинов Cry, Cyt, Vip, Vpb, Spp, Mpp, Tpp, Xpp и 7 вариантов биосинтетических кластеров генов, отвечающих за синтез вторичных метаболитов с бактерицидными и/или фунгицидными свойствами, а также генные кластеры биосинтеза сидерофоров и коранимина, обладающего потенциальной, нематоцидной активностью. Наибольшее разнообразие генов инсектицидных токсинов наблюдалось в геномах штаммов, выделенных в Индонезии, тогда как наибольший репертуар биосинтетических кластеров генов, ответственных за синтез бактериальных и фунгицидных соединений, обнаружен в Крыму. Кроме того, один из штаммов, изолированных из проб, собранных в Крыму, является наиболее перспективным в сельском хозяйстве благодаря сочетанию генов, ассоциированных с наличием бактерицидных, инсектицидных и ростостимулирующих свойств. Таким образом, полученные данные позволяют сделать вывод о потенциальной ценности некоторых из выделенных изолятов для сельского хозяйства в связи с их инсектицидными, антибактериальными, фунгицидными и стимулирующими рост растений свойствами.

Работа была выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 24-16-00284).



Путь метаболизма метанола у дрожжей как модель для изучения эволюции регуляторных систем

А. М. Румянцев¹, А. В. Сидорин¹, А. С. Макеева¹, Т. М. Яншина¹, Е. В. Самбук¹, М. В. Падкина¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург
rumyantsev-am@mail.ru

Метилотрофные микроорганизмы широко распространены в природе и играют огромную роль в экосистемах, участвуя в глобальном цикле одноуглеродных соединений. Однако среди эукариотических микроорганизмов способность к метилотрофии обнаружена лишь у небольшого числа видов дрожжей, использующих метанол в качестве единственного источника углерода и энергии. Важным представителем таких дрожжей являются *Komagataella phaffii* (ранее *Pichia pastoris*), которые активно применяются в современной биотехнологии в качестве организма-продуцента. Путь метаболизма метанола сходен у известных видов метилотрофных дрожжей и включает в себя набор уникальных ферментов. Промоторы генов метаболизма метанола (*MUT*-генов) часто применяются при синтезе рекомбинантных белков с использованием *K. phaffii*, и поэтому их регуляция активно изучается. В ходе наших исследований с помощью методов транскриптомного анализа был подробно изучен ответ клеток *K. phaffii* на наличие в среде ряда аминокислот [1,2] и доступность витаминов [3]. Было показано, что *MUT*-гены координированно отвечают не только на доступность источника углерода, но и на другие факторы среды. При этом были обнаружены новые элементы системы регуляции *MUT*-генов у *K. phaffii*.

Особенный интерес полученные результаты представляют в сравнении с другими видами дрожжей, в первую очередь *Saccharomyces cerevisiae*. Несмотря на отсутствие у этих дрожжей способности к утилизации метанола, у них обнаружены регуляторные механизмы, сходные с теми, что вовлечены в регуляцию *MUT*-генов у *K. phaffii*. Можно предположить, что в ходе эволюционных процессов, при возникновении у дрожжей способности к метилотрофии, уже существовавшие регуляторные блоки взяли под свой контроль уникальный путь метаболизма метанола. Это обеспечило его эффективную интеграцию в сложную метаболическую сеть, существующую в клетках дрожжей.

[1] Rumyantsev et al. *Microorganisms*. 2021; 10(1):67.

[2] Ianshina et al. *Microorganisms*. 2023;11(4):877.

[3] Makeeva et al. *Biochemistry (Mosc)*. 2023;88(9):1368–1377.

Исследования проведены при поддержке гранта Министерства образования РФ на создание научного центра мирового класса «Агротехнологии будущего» (соглашение No 075-15-2022-322 от 22.04.2022).



Изучение влияния пролина на экспрессию генов метилотрофных дрожжей *Komagataella phaffii*

А.В. Сидорин¹, Е.В. Самбук¹, А.М. Румянцев¹

¹ Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб. 7/9
antonsidorin@list.ru

Пролин является протеиногенной многофункциональной аминокислотой. Известно, что он участвует в ряде метаболических процессов, например, защите клеток от различных стрессорных воздействий и поддержании структуры мембран. Его роль в живых клетках активно изучается, в частности, на модельном объекте — дрожжах *Saccharomyces cerevisiae*.

Сравнение этих данных с другими видами дрожжей позволяет выявить разнообразие функций пролина в клетках, а также исследовать регуляцию процессов, в которые вовлечена данная аминокислота.

Метилотрофные дрожжи *Komagataella phaffii* являются очень важной системой в биотехнологии, используемой для синтеза целевых белков. *K. phaffii* демонстрируют ряд особенностей в сравнении с дрожжами *S. cerevisiae*. Так, например, дрожжи *K. phaffii* способны утилизировать метиловый спирт и, в отличие от дрожжей *S. cerevisiae*, не демонстрируют Крэбтри эффект. Изучение влияния пролина на клетки этих дрожжей, в сравнении с тем, что известно для *S. cerevisiae*, позволяет подробно исследовать роль данной аминокислоты для дрожжевых клеток, а также оптимизировать состав сред и условий культивирования *K. phaffii*.

В ходе данной работы с использованием методов транскриптомного анализа было изучено влияние пролина на экспрессию генов у дрожжей *K. phaffii*. При этом пролин был добавлен в среду в различных сочетаниях с источниками углерода и азота (метанолом и сульфатом аммония).

При сравнении культур *K. phaffii*, выращенных в средах с метанолом и содержащих пролин или сульфат аммония в качестве единственных источников азота, было выявлено 929 (~18.9% от всех генов) дифференциально экспрессирующихся генов. Отдельно выращивали культуры *K. phaffii* в средах с метанолом, содержащих смесь пролина и сульфата аммония. При сравнении уровней мРНК в клетках, выращенных в таких условиях и в контрольных средах с метанолом и сульфатом аммония, было выявлено 425 (~8.6% от всех генов) дифференциально экспрессирующихся генов. Полученные результаты позволяют предположить, что для *K. phaffii* пролин является комплексным источником углерода, азота и энергии, и что его метаболизм регулируется в зависимости от состава среды и доступности основных биогенных элементов.

Исследования проведены при поддержке гранта Министерства образования РФ на создание научно-го центра мирового класса «Агротехнологии будущего» (соглашение No 075-15-2022-322 от 22.04.2022).



Микробные летучие органические соединения: биологическая активность и специфичность бактериального ответа на их действие

Д.Е. Сидорова¹, В.А. Плюта¹, Е.Н. Вагнер^{1, 2}, О.Е. Мелькина¹, О.А. Кокшарова^{1, 3}, И.А. Хмель¹

¹ ФГБУ КК НБИКС-ПТ НИЦ «Курчатовский институт», Москва

² ФГБОУ ВО РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва

³ НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва

misenok1@gmail.com

Микроорганизмы синтезируют большое разнообразие летучих органических соединений (ЛОС), которые способны влиять на рост про- и эукариот, активность ферментов, на экспрессию генов различных организмов, выполнять роль химических сигналов и действовать на Quorum Sensing (QS) систему регуляции бактерий.

В нашей работе изучается действие бактериальных ЛОС с разной химической структурой (кетоны, терпены, спирты, серосодержащие соединения) на различные биологические объекты (бактерии и их биопленки, растения, животные). Было показано, что исследуемые ЛОС подавляли жизнедеятельность фитопатогенных бактерий *Agrobacterium tumefaciens*, ингибировали образование биопленок агробактерий, подавляли способность клеток мигрировать по поверхностям питательных сред, ингибировали (или стимулировали) рост модельного растения *Arabidopsis thaliana* и прорастания его семян, оказывали убивающее действие на плодовых мушек *Drosophila melanogaster* (особенно при действии терпенов).

Механизмы действия ЛОС на бактериальные клетки исследовались с помощью специфических *lux*-биосенсорных штаммов *Escherichia coli*. Исследованные ЛОС не вызывали окислительного стресса, но в присутствии перекиси водорода или параквата снижали индукцию экспрессии генов *katG*, *oxyS* или *soxS*, соответственно. При совместном действии с ионами меди, цинка и мышьяка исследуемые ЛОС, в основном, снижали индукцию экспрессии генов *copA*, *zntA* и *arsR*, отвечающих на стресс, вызванный действием ионов этих тяжелых металлов и мышьяка. С использованием *lux*-биосенсоров исследованы механизмы действия (-)-лимонена, (+)- α -пинена, кетонов и -иона на бактерии.

Изучено влияние действия ЛОС на подавление функционирования QS систем в бактериальной клетке (Quorum Quenching (QQ)). Из всех исследованных ЛОС только β -ионон обладал QQ эффектом в отношении QS системы LuxI/LuxR типа.

Работа частично финансировалась в рамках гос-задания НИЦ «Курчатовский институт» на 2023–2024 годы и соглашения с Минобрнауки № 075-15-2019-1659.



Исследование регуляции транспорта аминокислот с разветвленным радикалом через цитоплазматическую мембрану *Escherichia coli* K-12

А.А. Степанова¹, Д.М. Бубнов¹, Т.В. Выборная¹, А.А. Хозов^{1, 2}, С.В. Молев^{1, 2}, О. Е. Мелькина¹,
А.А. Привалова^{1, 3}, С.П. Синеокий¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт», Москва

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

³ Институт тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова МИРЭА – Российского технологического университета, Москва

ryzh18@mail.ru

Транспорт метаболитов через мембрану играет центральную роль в поддержании гомеостаза бактериальной клетки и обеспечении адекватного ответа на изменение условий окружающей среды. Вместе с тем, процесс поиска мембранных переносчиков и описания их свойств все еще далек от завершения [1].

Известно, что среди незаменимых аминокислот с разветвленным радикалом транспортные системы L-валина переносят также L-лейцин и L-изолейцин. При изучении мутаций, придающих клеткам *E.coli* устойчивость к L-валину, нами было обнаружено, что их возникновение в большинстве случаев локализуется в гене *yhjE*, продукт которого относится к ранее не охарактеризованной транспортной системе. С использованием штаммов, неспособных к синтезу L-лейцина и L-изолейцина, и лишенных известных транспортеров этих аминокислот, нами был проведен *in vivo* анализ и было показано, что YhjE участвует в поглощении L-изолейцина, но не L-лейцина, что было подтверждено в ходе *in vitro* измерения его активности по отношению к этим аминокислотам. Кроме того, нами была исследована активность YhjE в присутствии избытка 20 аминокислот. К значительному падению активности приводило присутствие следующих аминокислот: L-валин, L-цистеин и L-тирозин, что может свидетельствовать о конкурентном ингибировании и, следовательно, о способности YhjE к транспорту этих аминокислот.

Для исследования регуляции экспрессии нами была измерена активность промотора *yhjE* и активность транспорта L-изолейцина, опосредованную его продуктом. Культивирование клеток в присутствии L-изолейцина, L-метионина и L-лейцина приводило к снижению обеих величин. В результате инактивации глобального регулятора Lrp активность промотора значительно снижалась, что объясняет репрессию со стороны L-лейцина, внесенного в среду.

Таким образом, в ходе нашей работы была показана функция ранее не охарактеризованной транспортной системы YhjE, что вносит значительный вклад в понимание механизмов транспорта незаменимых аминокислот с разветвленным радикалом. Более детальное изучение YhjE требует очистки этого белка с последующим исследованием его свойств в составе протеолипосом, что является предметом нашей дальнейшей работы.

[4] Karp, P. D., Ong, W. K., Paley, S., Billington, R., Caspi, R., Fulcher, C., et al. (2018). The EcoCyc Database. EcoSal Plus 8. doi: 10.1128/ecosalplus.ESP-0006-2018.

Работа выполнена при финансовой поддержке Государственного задания НИЦ «Курчатовский институт» и частичной поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации № 075-15-2019-1659.



Высокопроизводительное секвенирование как универсальный инструмент оценки качества микробных биопрепаратов

М. Ю. Сыромятников¹, Е. Ю. Нестерова²

¹ ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий», Воронеж

² ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет», Воронеж

mihan.vrn@mail.ru

Биопрепараты на основе микроорганизмов широко используются в пищевой промышленности (закваски, защитные культуры), сельском хозяйстве (пробиотики для животноводства, стимуляторы роста растений и биопестициды) и здравоохранении (пробиотики). Оценка состава таких биопрепаратов классическими микробиологическими методами практически невозможна ввиду широкого спектра используемых для производства биопрепаратов бактерий и грибов, под которые необходимы специализированные питательные среды. Известно, что высокопроизводительное секвенирование позволяет проводить идентификацию одновременно всех видов микроорганизмов, присутствующих в анализируемых образцах. При этом по соотношения «ридов» секвенирования можно судить о соотношении самих микроорганизмов в образце. В лаборатории метагеномики и пищевых биотехнологий ВГУИТ был проведен широкий скрининг микробиологических биопрепаратов для сельского хозяйства и пищевой промышленности, доступных на Российском рынке с помощью высокопроизводительного секвенирования. Установлены множественные несоответствия состава бактерий с заявленными производителями. Более половины микробного состава 55% биопрепаратов для сельского хозяйства представлено сторонними микроорганизмами, при этом бактериальный состав 50% биопрепаратов не включал как минимум один заявленный род бактерий. Установлено, что бактериальный состав 63% образцов заквасочных культур отличался от заявленного производителем, а 29% пробиотиков характеризовалось отсутствием микроорганизмов, заявленных производителями. Примечательно, что 6% пробиотиков имели в своем составе совершенно другие роды бактерий по сравнению с указанным производителем составом. При этом в ряде биопрепаратов были выявлены условно-патогенные микроорганизмы. Кроме того, показано, что подход высокопроизводительного секвенирования, основанный на фрагментировании ДНК, позволяет более точно установить таксономическую принадлежность бактерий и одновременно выявить грибковые микроорганизмы и вирусы. Также, этот подход позволяет выявить гены антибиотикорезистентности бактерий. В целом показано, что высокопроизводительное секвенирование может быть универсальным инструментом контроля качества микробиологических биопрепаратов.



Влияние различных источников углерода на продукцию кантаксантина генномодифицированным штаммом дрожжей *Yarrowia lipolytica* ВКПМ-У-5210

И. М. Тарасов¹, М. О. Таратынова¹, Ю. М. Федяева¹, А. С. Федоров¹, Е. Ю. Юзбашева¹, С. П. Синецкий¹

¹ Биоресурсный центр – всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ), отдел ресурсных центров Курчатовского комплекса НБИКС-природоподобных технологий НИЦ «Курчатовский институт», Москва

qqqtarasov@yandex.ru

Кантаксантин — природный краситель с сильными антиоксидантными свойствами, который используется в кормовой, пищевой и медицинской промышленности. Разработка биотехнологического производства на основе микроорганизмов является многообещающей альтернативой получению кантаксантина с помощью химического синтеза. Одним из перспективных микроорганизмов являются дрожжи *Yarrowia lipolytica*, способные накапливать большое количество ацетил-КоА, предшественника биосинтеза кантаксантина, и обладающие рядом других преимуществ [1].

Актуальной задачей является удешевление сред культивирования для высокопроизводительных штаммов. Был получен генно-инженерный штамм *Y. lipolytica* ВКПМ У-5210, способный утилизировать сахарозу в качестве единственного источника углерода и синтезировать кантаксантин. Цель данного исследования — изучение влияния различных источников углерода на продукцию кантаксантина штаммом ВКПМ У-5210.

Был проведен скрининг трех источников углерода — глюкозы, сахарозы и мелассы (побочный продукт сахарного производства, состоящий в среднем на 50% (об./об.) из сахарозы). Культивирование штамма ВКПМ У-5210 проводили 5 суток в 3-х литровом биореакторе на среде УР: 10 г/л дрожжевой экстракт, 20 г/л пептон бактериологический; с начальной концентрацией исследуемого источника углерода 5 г/л и скоростью его подпитки 26.5 г/час с 4 по 20 час и 5.7 г/ч с 20 по 120 час.

Внутриклеточное накопление кантаксантина составило 9.2, 19.6 и 15.6 мг/г сухого веса клеток, и конечная концентрация кантаксантина достигала 712.4, 906.7 и 918.0 мг/л для глюкозы, сахарозы и мелассы, соответственно. Съем кантаксантина 1.7 г был одинаков при культивировании на сахарозе и мелассе, а на глюкозе составил 1.0 г. Таким образом, продемонстрировано эффективное использование более дешёвого источника углерода — мелассы — при культивировании штамма ВКПМ У-5210, положительно сказывающееся на продукции кантаксантина.

[1] *Abdel-Mawgoud et al.*(2018). Metabolic engineering in the host *Yarrowia lipolytica*. *Metab Eng*, 50, 192–208. doi:10.1016/j.ymben.2018.07.016.



Улучшение экспрессии генов в *Corynebacterium glutamicum* с помощью 3`-нетранслируемого фрагмента ДНК

И.П. Токмакова¹, А.Я. Циберт², М.С. Потапова¹, К.В. Лавров¹, А.С. Яненко¹

¹ НИЦ «Курчатовский институт», Москва

² «Российский Государственный Аграрный Университет – МСХА имени К.А.Тимирязева», Москва

tokmakovai@yandex.ru

Corynebacterium glutamicum — непатогенная грамположительная палочкообразная бактерия, из семейства *Corynebacteriaceae*, используемая в биотехнологии как продуцент аминокислот, таких как L-глутамат, L-лизин, L-валин, а также как перспективный продуцент гетерологичных белков [1–3]. Разработка новых инструментов улучшения экспрессии целевых генов важна для развития генетических технологий для этих бактерий.

В двух штаммах, *C. glutamicum*, ATCC13032 и ATCC13869, изучалось влияние некодирующего фрагмента ДНК из *Rhodococcus rhodochrous* M8, обозначенного 3Н, на уровень экспрессии репортёрного гена под контролем промотора P_{tuf} [2]. Репортёрным геном был *turboGFP* (ген модифицированного зелёного флуоресцирующего белка из *Pontellina plumata* [4]). Были сконструированы экспрессионные кассеты, P_{tuf}-*turboGFP*-3Н или P_{tuf}-*turboGFP*, и автономно-реплицирующиеся плазмиды, содержащие эти кассеты. Плазмиды вводили в клетки штаммов *C. glutamicum* с помощью электротрансформации, отбирали стабильно реплицирующиеся варианты на твёрдой среде с апрамицином. Полученные штаммы выращивали в течение 144 ч в богатой жидкой питательной среде 2LB, с 2% мальтозой, антибиотиком, и измеряли удельную интенсивность флуоресценции клеток ИФ/ОП в динамике. В первые сутки культивирования значение ИФ/ОП в обоих штаммах были в диапазоне ок. 400–800 ед. и достигали максимумов (1000–1900 ед.) на пятые сутки. Значения ИФ/ОП контрольных штаммов, не содержащих *turboGFP*, не превышало 45 ед., что говорит о сравнительно высокой активности использованного промотора. Также было обнаружено, что значения ИФ/ОП штаммов с кассетой P_{tuf}-*turboGFP*-3Н примерно в 2 раза превышают таковые для штаммов с кассетой P_{tuf}-*turboGFP*. Таким образом, было продемонстрировано, что помещение фрагмента ДНК 3Н после гена *turboGFP* приводит к повышению уровня экспрессии этого гена. Предполагается, что повышение экспрессии в варианте P_{tuf}-*turboGFP*-3Н связано с повышением стабильности мРНК этой кассеты, в результате наличия предполагаемых вторичных структур мРНК во фрагменте 3Н.

Исследованный в настоящей работе фрагмент ДНК является новым инструментом повышения экспрессии генов в *Corynebacterium glutamicum*, использование которого не связано с вмешательством в структуру ДНК промотора.

1. Шереметьева М. Е. и др. Рациональная метаболическая инженерия *Corynebacterium glutamicum* для продукции валина. Вавиловский журнал генетики и селекции, 2022, 26(8), 743–757. DOI:10.18699/VJGB-22-00.
2. Тарутина М. Г. и др. Оценка эффективности промоторов *Corynebacterium glutamicum* и их использование для усиления активности генов у лизин-продуцирующих бактерий // Биотехнология. — 2015. — № 6. — С. 16–24. DOI: 10.21519/0234-2758-2015-6-16-24.
3. Токмакова И. П. и др. Мутации в гене *fusA*, кодирующем фактор элонгации G у коринеформных бактерий, приводят к повышению продукции лизина. // Биотехнология. — 2016. — № 6. — с. 53–59. DOI: 10.1016/0234-2758-2016-32-53-59.
4. Evdokimov et al. Structural basis for the fast maturation of Arthropoda green fluorescent protein. EMBO Rep., 2006, 7 (10), p. 1006-1012. DOI: 10.1038/sj.embor.7400787.

Работа проведена в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».



Генетический полиморфизм молочных дрожжей *Debaryomyces hansenii*

А.Ю. Туаева¹, А.М. Пономарева¹, Е.С. Наумова¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение Национальный исследовательский центр
"Курчатовский институт", Москва
tuaeva_97@bk.ru

Дрожжи *Debaryomyces hansenii* широко распространены в природе и часто выделяются из субстратов с повышенным содержанием соли. Этот осмо- и галотолерантный вид обладает высоким биотехнологическим потенциалом и широко используется в качестве компонента заквасок при производстве различных сыров и кисломолочных продуктов [1, 2]. Однако очень мало известно о фенотипической и генетической изменчивости этих дрожжей.

Из различных молочных продуктов, произведенных фермерскими хозяйствами и промышленностью России, нами было выделено 53 штамма *D. hansenii*. Видовую принадлежность дрожжей определяли на основании стандартных физиологических тестов и секвенирования домена D1/D2 26S рДНК. Все изученные штаммы ассимилировали лактозу, но были не способны сбраживать ее. С помощью пульс-электрофореза нативных хромосомных ДНК, секвенирования гена пермеазы лактозы *LAC12* и ВЭЖХ-анализа изучены молекулярно-генетические особенности изученных дрожжей.

Обнаружен значительный полиморфизм хромосом дрожжей *D. hansenii*. По молекулярным кариотипам штаммы *D. hansenii* разделились на 6 групп, отличающиеся количеством и размером индивидуальных хромосомных полос. Согласно ВЭЖХ анализу, все изученные штаммы характеризовались достаточно низкой скоростью расщепления лактозы и через 72 ч утилизировали не более 53–55% сахара в ферментационной среде. Выделенные из образцов рассольных сыров Кавказа штаммы *D. hansenii* наиболее эффективно утилизировали лактозу. Эти дрожжи характеризовались уникальным кариотипическим профилем. Обнаружена корреляция между хромосомными профилями и однонуклеотидными заменами в последовательностях гена пермеазы лактозы *LAC12*.

Обсуждается возможность использования обнаруженного молекулярно-генетического полиморфизма дрожжей *D. hansenii* для отбора штаммов, перспективных для молочной промышленности России.

[1] Breuer U., Harms H. *Debaryomyces hansenii* — an extremophilic yeast with biotechnological potential // *Yeast*. 2006. V. 23. № 6. P. 415–437.

[2] Navarrete C., Estrada M., Martínez J. L. *Debaryomyces hansenii*: an old acquaintance for a fresh start in the era of the green biotechnology // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2022. V. 38. № 6. P. 99.

Исследование проведено в рамках выполнения государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».



Эндوفитные бактерий засухоустойчивых растений — антагонисты фитопатогенных грибов и бактерий

М.В. Худяева¹, В.К. Чеботарь¹, Е.П. Чижевская¹, О.В. Келейникова¹, М.Е. Баганова¹, А.В. Ерофеева¹,
Р.Д. Костицын², О.В. Хонина², Н.Г. Лапенко², И.А. Тихонович^{1,3}

¹ ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии» (г. Санкт-Петербург, г.Пушкин, Россия)

² ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр» (Ставропольский край, Михайловск, Россия)

³ Санкт-Петербургский государственный университет (г. Санкт-Петербург, Россия)

khudyaeva@list.ru

Ключевые слова: антагонистическая активность, эндوفитные бактерии, фитопатогены, засухоустойчивые растения.

В сельском хозяйстве активно применяют различные методы защиты растений от болезнетворных организмов. Патогенная микрофлора значительно снижает качество и урожайность сельскохозяйственных культур. По данным последних исследований, большинство эндوفитных бактерий проявляют высокую антагонистическую активность к фитопатогенным грибам и бактериям. Создание микробиологических препаратов на основе эндوفитных бактерий с высокой антагонистической активностью к фитопатогенам является перспективным направлением в сельскохозяйственной микробиологии.

Изучался микробиом засухоустойчивых растений мари белой (*Chenopodium album* L.), житняка пустынного (*Agropyron desertorum* (Fisch. ex Link) Schut.) и верблюжьей колючки обыкновенной (*Alhagi pseudalhagi*) с целью выделения функционально ценных для растений эндوفитных бактерий, обладающими фунгицидной, бактерицидной и ростстимулирующей активностью, а также способностью повышать устойчивость растений к абиотическим стрессам (засоление, засуха). Растения произрастали в засушливых и засоленных регионах Ставропольского края России. Выделение штаммов эндوفитных бактерий проводили из листьев, корней и стеблей всех собранных растений по разработанной оригинальной методике с применением специализированных питательных сред. Из всех растений было выделено 69 изолятов эндوفитных бактерий: из мари белой — 45 штаммов, житняка пустынного — 18 штаммов и верблюжьей колючки обыкновенной — 6 штаммов.

Оценку антифунгальной активности эндوفитных бактерий проводили по степени подавления роста двух штаммов фитопатогенных грибов 60519 *Fusarium oxysporum* и 1.2 *Rhizoctonia solani* (штаммы из коллекции ВИЗР, предоставленные к. б. н. Т. Ю. Гагкаевой и к. б. н. А. В. Хютти). По результатам исследований, наибольшая антифунгальная активность против двух грибов (коэффициент ингибирования более 50%) была обнаружена у 9 штаммов, выделенных из мари белой (Can06L, Can09L, Can10L, Can11L, Can13L, Can21L, Can02R, Can04R и Can09S), 4 штаммов, выделенных из житняка пустынного (Adn04R, Adn02S, Adn05S, Adn06S), а также 1 штамма, выделенного из верблюжьей колючки обыкновенной (Apr01R).

Исследования бактерицидной активности проводили на четырех штаммах фитопатогенных бактерий — *Pectobacterium atrosepticum* штамм 5128, *Clavibacter michiganensis* штамм 5351, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* штамм 23, *Pseudomonas* sp. штамм 8949 (из коллекции фитопатогенных микроорганизмов ВИЗР, предоставленных к. б. н. А. М. Лазаревым). Степень бактерицидной активности эндوفитных бактерий оценивали по размеру зоны подавления фитопатогенов. Наилучшие результаты показал штамм Can13L, выделенный из листьев мари белой. Зоны ингибирования роста трех фитопатогенных штаммов бактерий (*Pectobacterium atrosepticum* штамм 5128, *Clavibacter michiganensis* штамм 5351, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* штамм 23) составляли от 15 до 17 мм.

Таким образом, выделенные изоляты эндوفитных бактерий засухоустойчивых растений имеют большой биотехнологический потенциал и могут быть перспективными кандидатами для разработки микробиологических препаратов с полифункциональными свойствами для растениеводства в регионах с недостатком влаги.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 23-66-10013.



Рибосомные промоторы *Yarrowia lipolytica*: сравнительный анализ и перспективы применения

А.А. Черенкова¹, О.Е. Мелькина²

¹ Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Национальный исследовательский центр
«Курчатовский институт», Москва

² Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва
anncheren@gmail.com

В метаболической инженерии дрожжевых штаммов-продуцентов промоторы относятся к ключевым регуляторным элементам, что подчеркивает важность их исследования и оптимизации. По силе экспрессии промоторы могут быть условно подразделены на 3 группы с высокой, средней и низкой силой. Потенциальным источником дрожжевых промоторов с сильной конститутивной экспрессией могут быть гены, кодирующие белки рибосом [1, 3].

В настоящей работе проведен скрининг 64 промоторов рибосомных генов дрожжей *Yarrowia lipolytica*, отобранных на основании сходства их аминокислотных последовательностей с рибосомными белками *Saccharomyces cerevisiae*. Для последних показано, что большая часть генов рибосомных белков представлена в двух копиях, при этом промоторы однокопийных генов демонстрируют значительно более высокий уровень активности по сравнению с дублированными. Предполагается, что это является компенсационным механизмом для достижения необходимого эквимольного соотношения белков рибосом [4]. В отличие от *S. cerevisiae*, в *Y. lipolytica* практически все гены, кодирующие белки большой и малой субъединиц рибосом, представлены в одной копии. Для оценки активности отобранных промоторов их нуклеотидные последовательности были транскрипционно слиты с геном зеленого флуоресцентного белка (*hrGFP*). Сила промотора измерялась по шкале, где автофлуоресценция клеток без интеграции равна 0%, а флуоресценция известного сильного промотора *rTEF1* [2] равна 100%.

Для всех исследованных промоторов выявлено снижение экспрессии репортерного гена при переходе от экспоненциальной к стационарной фазе роста дрожжевых клеток, что также согласуется с исследованиями, проведенными на *S. cerevisiae* [1, 3].

Показано, что в экспоненциальной фазе роста силы промоторов значительно различаются по средней интенсивности флуоресценции. Подавляющая часть промоторов обладает низким (1,5–20% от силы *rTEF1*) или средним (20–50%) уровнем активности. Можно предположить, что в *Y. lipolytica* это обуславливает поддержание эквимольного соотношения рибосомных белков. Однако промотор гена *RPL25*, кодирующего белок L25 большой субъединицы рибосомы, продемонстрировал уровень экспрессии, превышающий уровень *rTEF1*.

При более детальном исследовании промоторной активности *rRPL25* путем последовательного укорачивания его длины (с 800 до 100 п. н.) было показано закономерное снижение его силы. Особенно интересным оказалось существенное снижение уровня активности при уменьшении длины промотора с 500 до 400 п. н. Предполагается, что между 400 и 500 нуклеотидами промотора гена *RPL25* находится активирующая последовательность (*upstream activating sequence*, UAS).

Исследованные рибосомные промоторы могут быть использованы в метаболической инженерии штаммов-продуцентов *Y. lipolytica* для достижения требуемого уровня экспрессии интересующих генов.

[1] Keren L. et al. *Molecular systems biology*. 2013. V. 29. № 9. P. 701.

[2] Müller S. et al. *Yeast*. 1998. V. 14. № 14. P. 1267–1283.

[3] Warner J. R. *Trends in biochemical sciences*. 1999. V. 24. №11. P. 437–440.

[4] Zeevi D. et al. *Genome research*. 2011. V. 21. №12. P. 2114–2128.

Работа финансировалась в рамках Тематического плана Государственного задания НИЦ «Курчатовский институт».

МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС
«VIII Съезд Вавиловского общества
генетиков и селекционеров, посвященный
300-летию российской науки и высшей школы»
Саратов
14-19 июня 2024 года

INTERNATIONAL CONGRESS
“VIII Congress of the Vavilov Society of Geneticists and Breeders,
Dedicated to the 300th Anniversary
of Russian Science and Higher Education”
Saratov
June 14-19, 2024

СБОРНИК ТЕЗИСОВ
BOOK OF ABSTRACTS

Электронное издание

Электрон. текстовые дан. (804 с., 14,3 МБ).
Подписано к изданию 30.05.2024. Заказ № 37.
Систем. требования: IBM PC;
Acrobat Reader 5.0 и выше.

ООО ИД «Петрополис»
197101, Санкт-Петербург, ул. Б. Монетная, д. 16,
офис-центр 1, 5 эт., пом. 498, тел. 336 50 34
e-mail: info@petropolis-ph.ru
<http://www.petropolis-ph.ru>

МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС

**VIII СЪЕЗД ВАВИЛОВСКОГО ОБЩЕСТВА
ГЕНЕТИКОВ И СЕЛЕКЦИОНЕРОВ,**

ПОСВЯЩЕННЫЙ 300-ЛЕТИЮ РОССИЙСКОЙ НАУКИ
И ВЫСШЕЙ ШКОЛЫ

14 - 19 ИЮНЯ 2024

САРАТОВ



congress.
vogis.
org

ISBN 978-5-9676-1604-4



9 785967 616044