

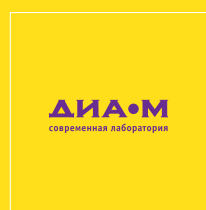
БАВИЛОВСКОЕ ОБЩЕСТВО ГЕНЕТИКОВ  
И СЕЛЕКЦИОНЕРОВ (ВОГиС)



# VI Съезд ВОГиС

и ассоциированные  
генетические  
симпозиумы

Ростов-на-Дону, 15.06 – 20.06.2014



Г Е Н Е Р А Л Ы Й   С П О Н С О Р

Генеральный спонсор \_\_\_\_\_



Золотые спонсоры \_\_\_\_\_



Серебряные спонсоры \_\_\_\_\_



Бронзовый спонсор \_\_\_\_\_



Спонсор 1-й категории \_\_\_\_\_



---

VI СЪЕЗД ВАВИЛОВСКОГО  
ОБЩЕСТВА ГЕНЕТИКОВ  
И СЕЛЕКЦИОНЕРОВ (ВОГиС)  
И  
АССОЦИИРОВАННЫЕ  
ГЕНЕТИЧЕСКИЕ  
СИМПОЗИУМЫ

---

г. РОСТОВ-НА-ДОНУ, 15–20 ИЮНЯ 2014 г.

---



ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ

## ОРГАНИЗАТОРЫ

Вавиловское общество генетиков и селекционеров (ВОГиС), Научный совет по генетике и селекции РАН, Институт цитологии и генетики СО РАН, Институт аридных зон Южного научного центра РАН, Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Санкт-Петербургский филиал ИОГен РАН, Медико-генетический научный центр РАМН, ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии РАСХ, Новосибирский государственный университет, Кафедра генетики и биотехнологии СПбГУ, Кафедра генетики МГУ, Кафедра цитологии и генетики НГУ, Южно-Российский институт – филиал РАНХиГС, ООО «Научный сервис» при поддержке Министерства образования и науки РФ, Федерального агентства научных организаций России и Российского фонда фундаментальных исследований.

## ОСНОВНОЙ СОСТАВ ОРГАНИЗАЦИОННОГО КОМИТЕТА

Председатель: академик РАН Шумный В.К.

Заместители председателя: академик РАН Колчанов Н.А., чл.-корр. РАН Янковский Н.К., чл.-корр. РАН Матишов Д.Г., академик РАН Тихонович И.А.

Ученый секретарь: д.б.н. Хлесткина Е.К.

## ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ

Председатель: академик РАН Инге-Вечтомов С.Г.

Заместители председателя: академик РАН Шестаков С.В., академик РАН Колчанов Н.А., академик РАН Гинтер Е.К., академик РАН Тихонович И.А.

Члены Программного комитета: академик РАН Пузырёв В.П., академик РАН Беспалова Л.А., академик РАН Левитин М.М., академик РАН Дебабов В.Г., академик РАН Гвоздев В.А., академик РАН Скрябин К.Г., академик РАН Харченко П.Н., академик РАН Харитонов Е.М., чл.-корр. РАН Янковский Н.К., чл.-корр. РАН Матишов Д.Г., чл.-корр. РАН Захаров-Гезехус И.А., чл.-корр. РАН Дыгало Н.Н., чл.-корр. РАМН Баранов В.С., чл.-корр. РАМН Воевода М.И., чл.-корр. РАСХН Гончаров Н.П., чл.-корр. РАН Костров С.В., д.б.н. Хуснутдинова Э.К., д.б.н. Салина Е.А., д.б.н. Бородин П.М., д.б.н. Лутова Л.А., д.б.н. Серов О.Л., д.б.н. Рубцов Н.Б., д.б.н. Киселев С.Л., д.м.н. Попова Н.К., д.б.н. Тарасов В.А., д.б.н. Мошкин М.П., д.б.н. Шкурят Т.П., д.м.н. Ижевская В.Л., д.б.н. Ежова Т.А., д.б.н. Зинченко В.В., д.б.н. Савватеева-Попова Е.В., д.б.н. Рысков А.П., д.б.н. Стегний В.Н., д.б.н. Кудрявцев А.М., д.б.н. Политов Д.В., д.б.н. Соловьев А.А.

## ТЕХНИЧЕСКИЙ КОМИТЕТ

Председатель: академик РАН Колчанов Н.А.

Заместители председателя: чл.-корр. РАН Матишов Д.Г., д.б.н. Хлесткина Е.К., д.б.н. Кудрявцев А.М., к.экон.н. Рудой В.В.

Члены Технического комитета: д.б.н. Абилов С.К., Белдовская А.Д., Вовк-Андреева Л.А., д.с.-х.н. Высоцкий В.А., Зубова С.В., Курочкин А.В., Лаврюшев С.В., Морозова Е.В., д.б.н. Муха Д.В., Овакимян М.А., Ончукова А.А., д.б.н. Платонов Е.С., к.б.н. Стахеев В.В., д.б.н. Столшовский Ю.А., Токпанов Е.А., Трубицын А.В., Харкевич А.В.

## КОНТАКТЫ

Вавиловское общество генетиков и селекционеров (ВОГиС)

Адрес: пр. Лаврентьева, 10, Новосибирск, 630090. Тел.: +7(383)363 49 91;

факс: +7(383)333 12 78; эл. почта: info-vogis@bionet.nsc.ru

ISBN 978-5-91291-018-0



# СОДЕРЖАНИЕ

1. Эволюционная и популяционная генетика.....	4
2. Молекулярные и клеточные механизмы генетических процессов .....	28
3. Геномика, протеомика, биоинформатика и системная биология .....	48
4. Генетика развития и стволовые клетки .....	68
5. Генетика человека, медицинская генетика и генетические модели для биомедицинских исследований .....	79
6. Нейрогенетика и генетика поведения .....	117
7. Генетические основы селекции и биотехнологии .....	126
8. Экологическая генетика .....	186
9. Генетическое образование .....	206
Авторский указатель .....	207

# ЭВОЛЮЦИОННАЯ И ПОПУЛЯЦИОННАЯ ГЕНЕТИКА

## РОЖДЕНИЕ И СМЕРТЬ ГЕНОВ

*Журавлева Г.А.*

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

\*e-mail: zhouravleva@bio.pu.ru, zhouravleva@rambler.ru

В докладе пойдет речь не о возникновении жизни и появлении первых кодирующих молекул, постепенно превратившихся в современные гены. Целью является обсудить возможности возникновения новых генов в дополнение или на основе уже существующих генов, а также возможную судьбу современных генов. Предположения о возможной роли дупликаций генов в эволюции существовали еще в 30-е годы XX века. Но лишь бурное развитие методов молекулярной биологии позволило идентифицировать многочисленные повторяющиеся последовательности, показавшие высокую частоту дупликаций генов в эволюции. На основе этих данных С. Оно (1970) выдвинул предположение о том, что дупликация генов – это единственный способ возникновения новых генов. Среди множества различных механизмов дупликаций генов выделяют несколько основных: полная дупликация генома или поддиплоидизация, неравный кроссинговер или тандемные дупликации, дупликативная транспозиция и ретротранспозиция. Дупликации генов играют доминирующую роль в создании новых генов. Общеизвестно, что для эволюции более важна дупликация генома, а не отдельных его частей, так как в последнем случае возможно возникновение регуляторного дисбаланса из-за частичной дупликации регуляторных элементов генома. Известно, что полиплоидизация геномов происходила на протяжении эволюционной истории всех четырех эукариотических царств: растений, животных, грибов и протист. Сохранение дублированных копий в эволюции может обеспечиваться одним из трех процессов: (1) неофункционализацией; (2) субфункционализацией; (3) консервацией. Данные, полученные к настоящему времени, недостаточно для того, чтобы решить, какой из трех способов более часто используется в эволюции. Одним из вариантов неофункционализации является образование «химерных» или слитных генов. В обобщенном виде этот процесс известен под названием блочных перестроек генов. Это явление становится возможным вследствие дупликации всего гена или его части, т.к. лишь в этом случае оно не приведет к нарушению функции исходного гена. В настоящее время выделяют три типа эволюции семейств генов. Два самых простых типа – дивергенция и согласованная эволюция. При третьем способе, названном «рождение и смерть генов» (Niimura and Nei, 2006) комбинируются первые два способа. Анализ полностью секвенированных геномов выявил высокую частоту как возникновения, так и потери дублированных генов. Новые копии у эукариот «рождаются» с частотой около 0.001–0.01 на ген/на миллион лет, а умирают на порядок чаще, что совпадает с ранее высказанной точкой зрения, что судьбой большинства дублированных генов является псевдогенизация.

## КАЛЕЙДОСКОП ВИДОВ В БАЙКАЛЕ: НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ

*Шербаков Д.Ю. \*, Букин Ю., Перетолчина Т., Ситникова Т.,  
Пудовкина Т., Трибой Т., Коваленкова М., Кравцова Л.  
Лимнологический институт СО РАН (Иркутск), Россия*  
\*e-mail: sherb@lin.irk.ru

Существенная часть уникального видового разнообразия Байкала приходится на „букеты видов“ – группы таксонов, ставшие результатом адаптивной радиации в рамках одной относительно замкнутой экосистемы. Сравнение нуклеотидных последовательностей митохондриальных и ядерных генов уже более 20 лет используется для исследования эволюционных историй букетов видов байкальских беспозвоночных – моллюсков, членистоногих, аннелид и т. п. Гипотеза молекулярных часов позволяет оценивать возраст эволюционных событий. В последнее время для наиболее многочисленных видов многих из этих групп были проведены сравнительные исследования генетического разнообразия на уровне популяций и близких видов. Сравнительный анализ данных этих исследований позволил выявить некоторые общие черты: (1) большинство букетов видов молоды относительно Байкала (исключение – амфиподы), иногда это противоречит палеонтологическим данным (моллюски Baicaliidae); (2) не удается получить свидетельств в пользу аллопатрических механизмов видообразования; (3) не удается получить никаких свидетельств в пользу коэволюции даже тогда, когда виды тесно связаны с рамках сообществ; (4) во всех достаточно исследованных случаях разделение видов происходило быстро и симпатрически, остались свидетельства вторичных нарушений репродуктивных барьеров в виде митохондриальной трансгрессии, неполного разделения предковых линий и противоречий между эволюционными деревьями, построенными по нуклеотидным последовательностям различных ядерных локусов. В качестве объяснения кажущейся молодости букетов видов по сравнению с возрастом Байкала и ископаемыми свидетельствами можно предложить модель случайного процесса рождения-гибели, при котором видообразование протекает в соответствии с наличием свободных экологических ниш либо – путем вытеснения вида, уже занимающего соответствующую нишу (т. е. максимальное число одновременно живущих видов лимитируется разнообразием доступных им ниш). Главное предположение этой модели состоит в том, что ниши могут существовать дольше, чем занимающие их виды, которые последовательно сменяют друг друга в процессе конкуренции, приводящей к конкурентному исключению. Важно также и то, что речь идет об эндемических условиях, практически исключая выживание „проигравших“ в рефугиумах. Компьютерные эксперименты позволяют воспроизвести эффект кажущегося единственного общего предка, который существовал гораздо позднее группы родственных видов в эко-

системе. Небольшие модификации модели, такие, как отказ от предположения о мгновенном конкурентном исключении, позволяют предложить объяснение мощных взрывов адаптивной радиации, наблюдаемых не только в Байкале, но и в других экосистемах. Существенную роль в качестве драйвера видообразования, нарушающего стабильное существование населения озера, должны были играть периодические перестройки всей экосистемы из-за глобальных изменений климата. Эти преобразования если и не уничтожали полностью некоторые экологические ниши за счет процветания других, то очень сильно уменьшали их емкость, создавая для своих видов кризисные условия, которыми легко было воспользоваться оппортунистам.

## ПРОСТОЙ И СЛОЖНЫЙ ЕСТЕСТВЕННЫЙ ОТБОР В ЭВОЛЮЦИИ МОЛЕКУЛ

**Базыкин Г.А.**

Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН (Москва), Россия  
e-mail: gbazykin@iitp.ru

Дарвиновский отбор — движущая сила функциональной эволюции. Детальное понимание естественного отбора необходимо для осмысления таких разных биологических процессов, как возникновение устойчивости к лекарствам у патогенов и к пестицидам у вредителей, антигенный дрейф у патогенных вирусов и канцерогенез. Однако даже на самом простом уровне, уровне нуклеотидных последовательностей, пути, которыми следует отбор, и ограничения, накладываемые на него взаимодействиями между генами, остаются мало исследованными. Данные полногеномного секвенирования, объем которых растет с экспоненциальной скоростью, имеют прямое отношение к этому вопросу. Сравнительный анализ данных по дивергенции последовательностей и полиморфизму у разных организмов может помочь расшифровать сложные эволюционные сценарии. Я собираюсь рассказать о некоторых результатах работы нашей и других групп в этой области. Используя прочитанные геномы и филогении вирусов, насекомых, млекопитающих и т. д., мы, в частности, пытаемся получить ответы на следующие вопросы: Какая часть аминокислотных замен находится под положительным отбором? Какую роль в эволюции кодирующих и некодирующих последовательностей играют эпистатические взаимодействия между заменами? Приводит ли закрепление радикальных мутаций к последующему «корреляционному» накоплению мутаций малого эффекта?

## ЭВОЛЮЦИЯ И ГЕНЕТИКА СИМБИОТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ *DROSOPHILA MELANOGASTER-WOLBACHIA*

**Илинский Ю.Ю.** <sup>\*1,2</sup>, **Быков Р.А.** <sup>1</sup>, **Захаров И.К.** <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет (Новосибирск), Россия

\*e-mail: paullee@bionet.nsc.ru

Внутриклеточная симбиотическая бактерия *Wolbachia* широко распространена среди видов членистоногих и некоторых нематод. Для нее характерна строгая трансвариальная передача между поколениями хозяина. Известны единичные случаи горизонтального переноса бактерии между разными видами. Среди разнообразия симбиозов «хозяин-вольбахия» симбиотическая система *Drosophila-Wolbachia* привлекает особое внимание генетиков и молекулярных биологов. Биология и генетика *D. melanogaster* хорошо изучены, что позволяет устанавливать генетические

факторы, опосредующие взаимодействие между симбиотическими партнерами. Роль вольбахии, как факультативного фактора цитоплазматического фона хозяина, необходимо учитывать при проведении широкого круга исследований даже не связанных напрямую с симбиотическими отношениями. Многие аспекты влияния бактерии на биологию хозяина либо остаются не до конца ясными, либо не изучались вовсе. Например, *Wolbachia* обнаружена повсеместно в природных популяциях *D. melanogaster*, зачастую с высокой концентрацией инфицированных особей. В чем именно заключаются механизмы поддержания и распространения *Wolbachia* в популяциях хозяина? Такие свойства симбиотической системы, как мутуалистические эффекты и репродуктивные аномалии, индуцируемые бактерией, в силу их слабого влияния на хозяина представляются недостаточными аргументами для объяснения эволюционного успеха вольбахии. Современное генетическое разнообразие *Wolbachia* ограничивается несколькими генотипами, определяемыми различными хромосомными перестройками. Для генома *Wolbachia* характерен крайне низкий нуклеотидный полиморфизм, что служит веским указанием на монофилетическое происхождение *Wolbachia*, распространенной у *D. melanogaster*. В докладе обобщаются современные литературные данные и результаты исследований, проводимых в лаборатории генетики популяций ИЦиГ СО РАН, анализируются паразитические и мутуалистические эффекты взаимодействия партнеров, оцениваются распространенность и генетическое разнообразие *Wolbachia* в природных популяциях и в линиях лабораторных фондов *D. melanogaster*, обсуждаются коэволюция эндосимбионта и митохондриального генома хозяина и рассматривается эволюционная история *D. melanogaster*.

## ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ НЕСОВМЕСТИМОСТЬ ГЕНОМОВ У ИНFUЗОРИЙ *PARAMECIUM TETRAURELIA*

**Потехин А.А.** <sup>\*1</sup>, **Некрасова И.В.** <sup>1</sup>, **Степанова Ю.А.** <sup>1</sup>, **Сингх Д.** <sup>2</sup>, **Денби-Уилкс С.** <sup>3</sup>, **Сперлинг Л.** <sup>3</sup>, **Мейер Э.** <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Высшая нормальная школа (Париж), Франция;

<sup>3</sup>Центр молекулярной генетики (Жиф-сюр-Иветт), Франция

\*e-mail: alexey.potekhin@spbu.ru

Геном микронуклеуса инфузорий насыщен некодирующей ДНК. У *Paramecium tetraurelia* мейоз микронуклеуса приводит к формированию идентичных гаплоидных пронуклеусов, которыми обмениваются партнеры по конъюгации. Из продуктов митоза зиготического ядра формируются новые микронуклеусы и мультигеномный макронуклеус. При формировании нового макронуклеуса хромосомы амплифицируются, происходит их фрагментация и эксцизия некодирующих последовательностей ДНК, в том числе, транспозоноподобных IES – внутренних элиминирующихся последовательностей. Ключевую роль в удалении некодирующей ДНК играют сканирующие РНК, синтезирующиеся при полной транскрипции микронуклеарного генома в самом начале полового процесса. В материнском макронуклеусе «отжигаются» сканРНК, гомологичные находящимся там последовательностям ДНК. Остальные сканРНК мигрируют в развивающийся макронуклеус и распознают гомологичную им ДНК, которая затем удаляется в ходе созревания макронуклеарного генома. Формирование нового соматического генома регулируется эпигенетическими механизмами, реализуемыми при участии микронуклеуса и материнского макронуклеуса. Согласно модели сканРНК отсутствующие в старом макронуклеусе последовательности будут удалены из нового генома. Однако наличие IES в микронуклеарном геноме одной клетки-родителя *P. tetraurelia* при ее отсутствии в микронуклеарном геноме второго родителя должно приводить к

невозможности ее удаления из макронуклеуса гибрида  $F_1$ , родительская клетка которого не имела IES и не синтезировала к ней сканРНК. Половое потомство гибрида также окажется не способно удалять эту последовательность, ставшую частью соматического генома. Если IES находится в жизненно важном гене, это приведет к летальности при гомозиготизации в постаптогамном потомстве  $F_2$ . Для проверки этого предположения были выбраны клоны *P. tetraurelia* 51 и 32, которые различаются по наличию/отсутствию в геноме семи IES. При скрещивании клонов 51 и 32 выживаемость потомков  $F_2$  оказалась в несколько раз ниже выживаемости потомства  $F_2$  внутриклонального скрещивания. У большинства потомков  $F_1$  происходит эксцизия лишь части копий полиморфных IES, и примерно в 20 % случаев имеет место полное сохранение IES у гибрида  $F_1$ , родительская клетка которого не имела сканРНК к этой IES. Этот эффект объясняет наблюдаемое нарушение материнского наследования типов спаривания при скрещивании клонов 51 и 32 (Вругоо, 1977): одна из полиморфных IES находится в гене *mtB*, контролирующем экспрессию типа спаривания. Полученные данные указывают на существование у *Paramecium* феномена, аналогичного гибриднему дисгенезу.

### ЭРРАНТИВИРУСЫ ДРОЗОФИЛЫ: ЭВОЛЮЦИЯ И ИНТЕГРАЦИЯ

*Нефедова Л.Н., Ким А.И. \**

Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова (Москва), Россия  
\*e-mail: aikim57@mail.ru

Геном модельного организма *Drosophila melanogaster* содержит значительное количество мобильных элементов, среди которых ретротранспозоны с длинными концевыми повторами (ДКП-ретротранспозоны) группы *gypsy* занимают особое место, поскольку проявляют значительное структурно-функциональное сходство с ретровирусами и, по-видимому, имеют общее с ними происхождение. Группа *gypsy* состоит из двадцати шести элементов, различающихся количеством открытых рамок считывания (ОРС) (от одной до трех), и включает одиннадцать ДКП-ретротранспозонов с тремя ОРС, для двух из которых (*gypsy* и *ZAM*) ретровирусные свойства продемонстрированы экспериментально, остальные могут являться потенциальными ретровирусами. Все ДКП-ретротранспозоны с тремя ОРС отнесены к особой группе ретровирусов беспозвоночных – эррантиввирусами. Показано, что эррантиввирусы, в отличие от других ретровирусов, обладают специфичностью интеграции в геном хозяина. В группе *gypsy* можно выделить три подгруппы (клады) – *gypsy*, *Idefix* и *ZAM*, различающиеся выбором нуклеотидной последовательности сайта-мишени. Такая специфичность определяется, очевидно, структурными особенностями интеграз этих элементов. Кроме этого, в результате анализа секвенированного эухроматина и гетерохроматина *D. melanogaster* было выявлено, что определенные элементы, относящиеся к подгруппе *ZAM* группы *gypsy*, специфичны в отношении выбора статуса хроматина: *Tigant* обнаруживается исключительно в эухроматине, *ZAM* – в гетерохроматине. Такая специфичность определяется, по-видимому, 5'-нетранслируемой областью элементов, которая характеризуется наличием тандемных повторов, различающихся числом и нуклеотидным составом у разных элементов, и к которой могут иметь сродство гетерохроматиновые белки семейства HP1. Проведен филогенетический анализ 5'-нетранслируемых областей элементов группы *gypsy* с использованием секвенированных геномов двадцати видов *Drosophila* и с привлечением данных экспериментов проекта modENCODE (Genome-wide Chromatin

Profiling in *Drosophila*) для анализа взаимодействия 5'-нетранслируемых областей с белком HP1. Выявлены «горячие точки» инсерции элементов группы *gypsy*. Установлена корреляция числа повторов и их нуклеотидного состава в 5'-нетранслируемой области элемента и транспозиционной активностью элементов. Предложена схема, демонстрирующая возможные пути эволюции ретроэлементов у *Drosophila*, способствующие преодолению защитных механизмов хозяина. Работа выполнена при поддержке РФФИ (гранты № 12-04-31457, мол\_а, № 11-04-00403-а).

### ИЗ АЗИИ В ЕВРОПУ ЧЕРЕЗ СИБИРЬ: *COBITIS MELANOLEUCA* (PISCES, COBITIDAE)

*Пердусес А. <sup>1</sup>, Васильева Е.Д. <sup>\*2</sup>, Васильев В.П. <sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Музей естественной истории (Мадрид), Испания;

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (Москва), Россия;

<sup>3</sup>Институт проблем экологии и эволюции РАН (Москва), Россия

\*e-mail: vas\_katerina@mail.ru

Сибирская щиповка *Cobitis melanoleuca*, самый широко распространенный вид семейства вьюновых, обитает в пресных водах от бассейнов Дона и Волги в Европе до рек Амур и Хуанхэ в восточной Азии. Отдельным локальным группам популяций разными авторами присваивался самостоятельный статус от подвида до вида; в недавней сводке по вьюновым Мира признаны три вида. Изменчивость митохондриального гена *цитохрома b* (1140 п.н.) и фрагментов ядерных генов *RAG1* (886 п.н.), *RHO* (868 п.н.), *s7* (около 700 п.н.) изучена в 25 локальных популяциях (120 экз.) по всему ареалу сибирской щиповки, включая выделенные виды; использовались также данные Генбанка. По всем изученным маркерам выявлен очень низкий уровень генетической изменчивости и дивергенции. На всех филогенетических деревьях все особи сибирской щиповки объединялись в одну кладу с высоким уровнем поддержки (99–100 %) без какого-либо разделения в связи с таксономическими гипотезами или географическим распространением. Полученные результаты свидетельствуют о монофилии сибирской щиповки, не подтверждая правомочность выделения каких-либо таксонов в рамках единого вида *Cobitis melanoleuca*. Наблюдаемая на всем протяжении широкого видового ареала генетическая гомогенность атипична как для всех остальных представителей семейства вьюновых, так и для многих других пресноводных видов рыб, и предполагает относительно недавнюю панмиксию или существенный поток генов между различными локальными популяциями сибирской щиповки. Европейские и азиатские популяции обнаруживают высокий уровень генетического родства при малом числе ядерных гаплотипов, распространенных по всему ареалу. В то же время сеть гаплотипов цитохрома *b* демонстрирует присутствие уникальных гаплотипов, прежде всего в популяциях Сибири и Восточной Азии, при этом наиболее западные (европейские) популяции несут преимущественно гаплотипы общие с сибирскими и азиатскими популяциями. Характер современного распространения сибирской щиповки и ее филогенетических отношений с видами Восточной Азии предполагает последнюю колонизацию северной Европы через Сибирь примерно 1,4 млн лет назад. Соответственно, полученные данные подтверждают гипотезу о низком уровне гаплотипического разнообразия видов с последнею экспансией ареалов. Среди вьюновых рыб, сибирскую щиповку можно считать последним иммигрантом в Европу, использовавшим северный путь через Сибирь для расширения своего ареала.



## ДИНАМИКА ХРОМОСОМНОГО СОСТАВА ПОПУЛЯЦИЙ МАЛЯРИЙНЫХ КОМАРОВ РЕСПУБЛИКИ КОМИ В УСЛОВИЯХ ПОТЕПЛЕНИЯ КЛИМАТА

**Гордеев М.И.\***, **Москаев А.В.**

ГОУ ВПО Московский государственный областной университет (Москва), Россия

\*e-mail: gordeev\_mikhail@mail.ru

Исследовали инверсионный полиморфизм в популяциях малярийных комаров *Anopheles* (Diptera, Culicidae). Выборки личинок малярийных комаров были получены в 2011 г. в трех местообитаниях Республики Коми: в г. Сыктывкаре, пос. Палевицы (пойма р. Вычегды), г. Ухта (пойма р. Ухта). В результате цитогенетического анализа личинок были зарегистрированы три вида-двойника малярийных комаров: *An. beklemishevi*, *An. messeae*, *An. maculipennis*. Последний вид обнаружен в Республике Коми впервые с частотой 0,9-5,1%. Ранее в исследованиях В.Н. Стегния в 1975 г. этот вид в изученных местообитаниях не отмечен. Нами установлено, что на северо-западе Европейской части России (в Карелии) вид распространился к северу от своего исторического ареала вплоть до 65 параллели. Одновременно с изменением видового состава произошла качественная перестройка кариотипической структуры популяций у полиморфного вида *An. messeae*. В популяциях *An. messeae* резко возросла частота особей с новой для данного региона «южной» инверсией XL0 (до 14,9±4,4% у самок, n=67). Кроме того, в популяциях изменились частоты аутомных перестроек. Через 36 лет после исследований В.Н. Стегния показано значительное увеличение доли гомо- и гетерозигот с «южными» и «западными» инверсиями 2R0, 3R0, 3L0 (p<0,001). Например, доля гомо- и гетерозигот с инверсией 2R0 в г. Сыктывкаре достигает 30,9±4,4% (n=110). Фактически, в популяциях поймы р. Вычегды произошло качественное изменение хромосомного состава комаров: варианты с инверсиями XL0 и 2R0 ранее не встречались. Полученные нами результаты свидетельствуют, что на всем Европейском Севере, от Карелии до Урала, происходит вытеснение северных видов и замещение «северных» кариотипов на «южные» в популяциях *An. messeae*. Работа финансировалась по гранту РФФИ №13-04-01870-а.

## «МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ИСКОПАЕМЫЕ» И ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ПРЕДКОВОЙ ПОПУЛЯЦИИ *D. VIRILIS*

**Сорокина С.Ю.\*1**, **Романов Д.А.\*2**, **Буханов С.В.\*1**, **Андрянов Б.В.\*2**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия

\*e-mail: svetlana\_ibr@mail.ru

Особенностью синантропного вида *D. virilis* является низкий уровень генетической изменчивости, что связано с его недавним расселением по территории современного ареала. Недостаток изменчивости вызывает трудности при обработке и интерпретации филогенетической и популяционно-генетической информации. В данной работе мы провели поиск фрагментов древних митохондриальных гаплотипов (мт-гаплотипов), сохранившихся в ядерном геноме *D. virilis* в виде псевдогенов митохондриального происхождения (*Numt-sequences*), которые были распространены в предковой популяции этого вида до выделения из нее синантропной ветви. Метод позволил идентифицировать в отсеквенированном геноме *D. virilis* (genome.ucsc.edu) набор последовательностей, гомологичных мт-гену *atp6*, которые представляют 5 хорошо выраженных мт-гаплотипов (среднее значение попарных генетических расстояний

$p = 0.044$ ), давших начало псевдогенам. Данные псевдогены образовались в геноме в результате пяти независимых событий переноса фрагментов мтДНК в ядро. Впоследствии некоторые псевдогены амплифицировались в геноме. Полученные данные позволяют более детально рассмотреть систему филогенетических отношений в филаде *virilis-lummei*. Работа поддержана грантами РФФИ 11-04-01630-а и 12-04-00926-а, а также программой Президиума РАН «Живая природа».

## СЦЕНАРИИ ГИБРИДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И ФОРМИРОВАНИЯ РАЗНООБРАЗИЯ КЛОНАЛЬНЫХ ЛИНИЙ У ПАРТЕНОГЕНЕТИЧЕСКИХ ЯЩЕРИЦ РОДА *DAREVSKIA*

**Рысков А.П.**

ФГБУН Институт биологии гена РАН (Москва), Россия

e-mail: ryskov@mail.ru

Ящерицы рода *Darevskia* являются привлекательной моделью молекулярно-генетических исследований, поскольку они были предметом интенсивного биогеографического и экологического изучения и в связи с предположением о том, что партеногенез неоднократно возникал в этой группе. В настоящее время в состав рода *Darevskia* входит 17 двуполов и 7 однополов (партеногенетических) диплоидных видов гибридного происхождения. Ранее с помощью аллозимного анализа и изучения митохондриальной ДНК были установлены родительские двуполовые виды для всех партеновидов. Этими же методами показан низкий уровень генетического и клонального разнообразия исследованных партеновидов. Для большинства из них остается неясным, возникли они в результате единичного или множественных актов межвидовой гибридизации, каково видовое и популяционное разнообразие клональных линий, какие клоны имеют гибридное, а какие – пост-мутационное происхождение. Современные методы молекулярно-генетического анализа могут найти ответы, по крайней мере, на некоторые из этих вопросов. С помощью микросателлитного генотипирования нами проводятся масштабные исследования генетического и клонального разнообразия четырех партеновидов – *D. unisexualis*, *D. dahli*, *D. armeniaca* и *D. rostombekowi*. Для ряда локусов получены оценки популяционно-генетических параметров. Показано, что аллельное разнообразие микросателлитных локусов связано с вариациями микросателлитных кластеров и однонуклеотидным полиморфизмом в прилежащих ДНК, а аллельные варианты наследуются гибридным (партеногенетическим) геномом от родительских видов. Получены новые данные о генотипическом и клональном разнообразии исследованных партеновидов. Разработан новый подход по выявлению генотип-специфических маркеров, позволяющий определить у партеновида исходные клоны, возникшие в результате независимых актов межвидовой гибридизации, и те, которые имеют пост-мутационное происхождение.

## ПРОИСХОЖДЕНИЕ И РОЛЬ РЕДКИХ САМЦОВ В ПАРТЕНОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОПУЛЯЦИЯХ ПСИЛЛИД (НОМОРТЕРА, PSYLLOIDEA) СЕВЕРО-ВОСТОЧНОЙ ЕВРОПЫ: ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ И МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ

**Кузнецова В.Г.**

ФГБУН Зоологический институт РАН (Санкт-Петербург), Россия

e-mail: valentina\_kuznetsova@yahoo.com

Изучено 47 популяций Голарктического вида *Cacopsylla myrtilli* из Норвегии, Швеции, Финляндии и Северо-Запада России. В 37 популяциях обнаружены триплоидные самки с  $2n = 3x = 36$

+ XXX и апомиктическим типом партеногенеза. В 10 популяциях, наряду с триплоидными партеногенетическими самками, обнаружены диплоидные самки с  $2n = 24 + XX$  и самцы, частота встречаемости которых в популяциях варьировала от 0.1 % до 9.1 %. В результате хромосомного анализа выявлены два типа самцов. У самцов из популяций северной Норвегии, Финляндии и России, в мейозе гомологичные хромосомы конъюгируют с образованием 12 бивалентов, имеющих одну или две хиазмы каждый. У самцов из популяций южной Норвегии и северной Швеции гомологичные хромосомы не конъюгируют, оставаясь унивалентными (мейоз ахиазматического типа), в анафазе I они сегрегируют хаотично, что приводит к появлению метафаз II с разным числом хромосом и aberrантных сперматид и спермиев. Исследование показало, что и те, и другие самцы скрещиваются как с диплоидными, так и с партеногенетическими самками. Предполагается, что в партеногенетических популяциях самцы появляются в каждом поколении, однако, вследствие ничтожно низкой численности самцов первого типа и мейотического асинописиса у самцов второго типа, вклад этих редких (т.н. спандрических) самцов в генетическую структуру популяций стремится к нулю. Единственная популяция, найденная в Польских Татрах и считавшаяся до недавнего времени бисексуальной (с равным соотношением самцов и самок), по данным молекулярного анализа, неконспецифична *C. myrtilli* (Kuznetsova et al., 2011). Полученные данные позволяют сделать вывод, что *Cacopsylla myrtilli* является облигатно партеногенетическим видом, во всяком случае, на севере его ареала (Nokkala, Kuznetsova, Nokkala, 2013).

#### МИТОГЕНОМИКА И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ФИЛОГЕНЕТИКА РЫБ: ОБЗОР ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДАННЫХ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ПОЛНОГО МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА

**Картавец Ю.Ф.**

ФГБУН Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского (Владивосток), Россия;

Дальневосточный федеральный университет (Владивосток), Россия

e-mail: yuri.kartavtsev48@hotmail.com

Полный митохондриальный геном (митогеном) представлен в данном обзоре по данным секвенирования мтДНК посредством длинной полимеразной цепной реакции у черепахи *Pelodiscus sinensis*, бычьеголового сома *Liobagrus obesus*, нескольких видов ельцовых рыб *Leuciscine* и камбалообразных рыб, включая последовательности нуклеотидов (далее – последовательности) геномного банка. Полный набор последовательностей мтДНК сома *L. obesus* является типичным для костистых рыб и весьма сходен с митогеномами всех позвоночных животных, включая человека. Митогеном сома имеет длину 16531 пн и состоит из 13 белок-кодирующих генов, 2 генов rRNA, 22 генов tRNA и контрольного региона (CR). Анализ белок-кодирующих генов выявил статистически значимое смещение пропорции пиримидинов к пуринам (T+C):(A+G), подтверждая ранее известные факты, но с надежным статистическим обоснованием. Физической основой данного феномена смещения является поддержание гидрофобных свойств белков, кодируемых соответствующими генами. Однако имеются исключения из правила. Митогеном позвоночных животных является весьма консервативным, при этом самый консервативный элемент в нем – порядок расположения генов. Однако имеются достаточно лабильные элементы генома. Так обнаруживается перекрытие последовательностей генов, многочисленные одиночные замены, инделы, обмен генами с ядерным геномом. Были также обнаружены, вставки, часть из которых может быть фрагментами

мобильных элементов. Как использовать мтДНК в молекулярной филогенетике, учитывая описанные выше особенности? Ответ не является тривиальным, как это может показаться на первый взгляд. В зависимости от сравниваемых таксонов, набор целевых участков мтДНК или генных маркеров может быть различным. Белок-кодирующие гены мтДНК хорошо подходят для обнаружения дивергенции на уровнях род-семейство и даже отряд, включая отряды рыб и черепах. Во многих работах по молекулярной филогенетике *ND6* исключается из списка маркеров. Определенные причины для этого имеются. Однако в некоторых исследованиях обнаружены хорошо поддержанные деревья, которые построены с включением этого маркера в анализ наряду с другими. CR является наиболее изменчивой частью мтДНК и поэтому суждение о его включении в список маркеров для филогенетического анализа должно быть предметом специального рассмотрения в приложении к конкретному таксону. Для молекулярно-филогенетических реконструкций на высоких уровнях более приемлемыми следует считать маркеры tRNAs и 16S rRNA мтДНК, а также гены ядерной ДНК. Работа поддержана грантами: Дальневосточного отделения РАН 12-I-ОБН-07, 12-II-СО-06-017 и КПФИ 12-06-002.

#### КОМБИНАЦИОННЫЕ ЭФФЕКТЫ ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ГЕНОМОВ ЛЕЩА (*ABRAMIS BRAMA* L.) И ПЛОТВЫ (*RUTILUS RUTILUS* L.)

**Столбунова В.В.\*; Слынько Ю.В.**

ФГБУН Институт биологии внутренних вод

им. И.Д. Папанина РАН (Борок), Россия

\*e-mail: vvsto@mail.ru

С помощью маркеров ядерного генома (ITS1 рДНК, микросателлиты) и митохондриальной ДНК (мтДНК, *cytb*) изучены различные комбинации гибридных генотипов  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $F_b$ , полученные экспериментально при скрещивании плотвы (*Rutilus rutilus* L.) и леща (*Abramis brama* L.). Погеномное распределение хромосом и фертильность гибридов обоих полов позволяют решать проблемы согласования ядерных геномов, ядерно-цитоплазматических взаимодействий и интрогрессии мтДНК, которая может идти в обоих направлениях. Литературные данные и собственные исследования показывают, что особенностью гибридных зон является преобладание гибридов с мтДНК леща, что касается и возвратных вариантов – бэккроссов. Данное обстоятельство указывает на возможность интрогрессии мтДНК леща в геном плотвы, при этом плотва получает преимущества при расселении. В исследовании показано, что класс бэккроссов с мтДНК леща и восстановленным ядерным геномом плотвы обладает большей жизнеспособностью на стадии сеголетка, чем бэккроссы с мтДНК плотвы и ядерными генами леща. Вероятно, это обусловлено большей консервативностью мтДНК леща, чем плотвы. При этом ядерные гены леща более вариабельны, поскольку количество единичных инделей/мутаций ITS1 региона рДНК больше у леща и у гибридов лещ x плотва, чем у плотвы и гибридов плотва x лещ. Элиминация одного из родительских ITS1 рДНК фрагментов, обнаруженная в первом поколении гибридов, составила 28 % случаев в скрещиваниях самки леща x самца плотвы и только в 1,5 % случаев в реципрокном варианте скрещивания. Также, выявлено отклонение от закономерного расщепления классов потомков по ITS1 рДНК маркеру на стадиях личинки и сеголетка в возвратных и межгибридных скрещиваниях. Очевидно, что сценарии гибридизации, учитывая комбинационную сочетаемость геномов родительских видов при межвидовых и возвратных скрещиваниях, будут качественно отличаться друг от друга и иметь разные эволюционные последствия и биологический смысл.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ОХОТОМОРСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ ГРЕНЛАНДСКОГО КИТА (*BALAENA MYSTICETUS*)

Мешерский И.Г. <sup>\*1</sup>, Чичкина А.Н. <sup>2</sup>, Шпак О.В. <sup>1</sup>, Роженков В.В. <sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции

им. А.Н. Северцова РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Московский педагогический государственный

университет, Биолого-химический факультет (Москва), Россия

\*e-mail: molecoldna@gmail.com

Охотоморская популяция гренландского кита, географически обособленная от основного ареала вида и длительное время подвергавшаяся хищническому промыслу, занесена в Красную Книгу РФ с категорией 1 и в Красный список МСОП со статусом “Endangered-D”. Несмотря на это, сведения о современном состоянии этой популяции крайне скудны. В 1996–2000 гг. российско-американской экспедицией в заливе Константина (район Шантарского архипелага) путем биопсии были собраны образцы тканей 67 гренландских китов (Maclean, 2002). Нами аналогичным образом были получены образцы от 65 особей, летовавших в 2011–2012 гг. в Ульбанском заливе в том же районе моря. Для обеих выборок был проведен сходный молекулярно-генетический анализ. Сравнение частот аллелей ряда микросателлитных локусов продемонстрировало генетическую обособленность охотоморской популяции от популяции, обитающей в Беринговом, Чукотском, Бофорта (БЧБ), а также от китов других арктических морей (Givens et al., 2010). В то же время варианты гаплотипов мтДНК (гипервариабельный участок контрольного региона в анализе американских исследователей (Maclean, 2002; LeDuc et al., 2005), полные последовательности контрольного региона и гена цитохрома б, определенные нами), отмечаемые в охотоморской популяции, идентичны или очень близки к вариантам, известным для арктических китов. Однако, несмотря на общую обедненность гаплотипического состава, встречаемые у охотоморских китов варианты относятся к дистанцированным филогенетическим группам, так, что уровень нуклеотидного разнообразия гаплотипов мтДНК в Охотском море лишь не намного ниже, чем в популяции БЧБ. Сходными в обеих популяциях оказываются и показатели разнообразия аллелей ряда микросателлитных локусов. Таким образом, несмотря на резкое сокращение численности в самое недавнее время, ожидаемый эффект “бутылочного горлышка” на генетическом уровне выражен достаточно слабо. Сравнение данных по частоте встречаемости гаплотипов мтДНК и частотам аллелей микросателлитных локусов в выборках охотоморских гренландских китов 1995–2000 и 2011–2012 гг. показало практически полное отсутствие отличий между ними, что свидетельствует об отсутствии за последние 15 лет как повышенного уровня смертности животных, так и появления в Охотском море заметного количества мигрантов из популяции БЧБ. Таким образом, имеющиеся данные позволяют говорить, что состояние охотоморской популяции гренландского кита в настоящее время относительно стабильно.

## С1-01. К ФИЛОГЕОГРАФИИ ЛЕСНОЙ СОНИ *DRYOMYS NITEDULA* (PALLAS, 1778) (GLIRIDAE, RODENTIA) НА СЕВЕРНОМ КAVKAZE

Сталев В.В. <sup>\*1</sup>, Григорьева О.О. <sup>2</sup>, Балакирев А.Е. <sup>2</sup>, Орлов В.Н. <sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт аридных зон Южного научного центра РАН (Ростов-на-Дону), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции

им. А.Н. Северцова РАН (Москва), Россия

\*e-mail: stvaleriy@yandex.ru

Лесная соня – широко распространенный на Северном Кавказе грызун, населяющий обширный спектр древесно-кустарнико-

вых биотопов. С.И. Огнев (1947) выделял в рассматриваемом районе четыре подвида лесной соны. О.Л. Россолимо (1971) считала, что здесь обитают два подвида соны – номинативный *D. n. nitedula* и *D. n. ognevi*, причем граница между ними проходит по меридиану 42° в.д. Ранее нами было показано, что популяции лесной соны, обитающие на Западном Кавказе по митохондриальному гену *cytb* в значительной степени отличаются от зверьков населяющих Русскую равнину и образуют глубоко дивергировавшую (9,94 ± 0.02 %) монофилиетическую линию (Балакирев и др., 2013). Увеличение выборки за счет зверьков с территории Западного Кавказа (Абраульский п-ов, верховья р. Кубань) и центральной части Предкавказья (гора Стрижамент, окр. г. Армавир) подтвердила обособленность лесной соны Кавказа от европейских популяций *D. nitedula*. Кроме того, выявлена дивергенция обитающих на Северном Кавказе зверьков на две монофилиетические клады, обладающие высокой степенью поддержки – «западнокавказскую» и «центральнокавказскую». Первая из упомянутых генетических линий населяет черноморское побережье Кавказа, выявлена в Адыгее, Краснодарском крае (в том числе проникает по пойме Кубани в равнинное Предкавказье), Карачаево-Черкессии (Архыз). Зверьки «центральнокавказской» группы *D. nitedula* выявлены в верховьях р. Кубани (пос. Эльбрусский, аул Уччулан), в лесном массиве на горе Стрижамент. С высокой степенью вероятности можно предполагать, что две упомянутые филогруппы разделяются Даутским, либо Терердинским хребтом. Примечательно, что граница между ними в целом совпадает с границей подвидов – номинативного и *ognevi* (по О.Л. Россолимо, 1971). По 42° в.д. проходит также граница ландшафтных выделов – «западнокавказского» и «восточнокавказского» (Соколов, Темботов, 1989). Таким образом, на Северном Кавказе лесная соня представлена двумя митохондриальными линиями. По-видимому, целесообразно придать этим формам подвидовой статус. Необходимо продолжение работ для уточнения распространения этих филогрупп, выявления наличия/отсутствия потока генов между ними.

## С1-02. МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА ЭВОЛЮЦИОННО КОНСЕРВАТИВНОГО РЕТРОТРАНСПОЗОНА BOV-B LINE ЯЩЕРИЦ *DAREVSKIA UNISEXUALIS*

Годакова С.А. <sup>\*1,2</sup>, Чернявская М.М. <sup>1,2</sup>, Севастьянова Г.А. <sup>1</sup>, Корчагин В.И. <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Московский педагогический государственный университет (Москва), Россия;

<sup>2</sup>Институт биологии гена РАН (Москва), Россия

\* e-mail: svetlana\_godakova@mail.ru

Партеногенетические кавказские скальные ящерицы рода *Darevskia*, возникшие в результате межвидовой гибридизации двуполых родительских видов, представляют уникальную модель для изучения геномной нестабильности. Ранее, в геноме партеновида *Darevskia unisexualis* нами были описаны высокополиморфные микросателлитные локусы, позволяющие выявлять отдельные клональные линии внутри вида, возникшие в результате независимых актов межвидовой гибридизации, или имеющих мутационное происхождение. Помимо микросателлитов, в геноме *D. unisexualis* нами обнаружены области, гомологичные консервативному участку ретротранспозона Bov-B LINE, кодирующему ген обратной транскриптазы. Данный элемент был обнаружен у копытных, змей и у некоторых видов ящериц. Последующий анализ показал наличие данного участка и у 9 видов ящериц рода *Darevskia*. Целью данной работы является характеристика полноразмерного элемента Bov-B LINE генома ящериц рода *Darevskia*, определение его копийности и дивергенции в геноме. С помощью компьютер-



ного анализа баз данных нами была установлена консенсусная последовательность ретроэлемента Bov-B LINE. Используя ПЦР и разработанные варианты праймеров, были получены перекрывающиеся продукты амплификации, секвенирование которых позволило получить полноразмерную последовательность ретроэлемента Bov-B LINE *D. unisexualis*. Дальнейшее изучение структуры, копииности и видового распространения Bov-B LINE может дать новую информацию о его возникновении и эволюции.

### C1-03. ОЦЕНКА УРОВНЯ ИЗМЕНЧИВОСТИ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ СЕВЕРНОГО ОДНОПЕРОГО ТЕРПУГА ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ БЕРИНГОВА МОРЯ И ПРИКАМЧАТСКИХ ВОД ТИХООКЕАНА

*Кустова А.С. \**, *Шпигальская Н.Ю.*, *Золотов О.Г.*, *Косицына А.И.*, *Сараванский О.Н.*

ФГУП Камчатский научно-исследовательский институт  
рыбного хозяйства и океанографии  
(Петропавловск-Камчатский), Россия

\*e-mail: kustova.a.s@kamniro.ru

Северный одноперый терпуг *Pleurogrammus monopterygius* – ценный промысловый вид, характерный представитель тихоокеанской умереннобореальной фауны, широко распространенный вдоль северотихоокеанской дуги от Средних Курил на юго-западе до залива Аляска на востоке, включая окраинные дальневосточные моря – Берингово и Охотское. Цель настоящего исследования – апробация и подбор наиболее информативных популяционно-генетических маркеров, а также оценка уровня их изменчивости в выборках из уловов северного одноперого терпуга. Материалом послужили четыре выборки из западной части Берингова моря (две выборки) и из тихоокеанских вод, прилегающих к Камчатке (две выборки). Общий объем исследованного материала составил 175 экз. Для выявления популяционно-генетической изменчивости были апробированы семь микросателлитных локусов – *Pto69*, *Pto70*, *Pto152*, *Pto164*, *Pto286*, *Pto367*, *Pto399*, из которых *Pto69* был исключен из дальнейшего анализа, так как размер ПЦР-продукта не позволил достаточно объективно интерпретировать полученные результаты. Число обнаруженных аллельных вариантов варьировало от 5 (*Pto286*) до 26 (*Pto367*). Всего был выявлен 101 аллель в исследуемых локусах. Наибольший вклад в дифференциацию всей совокупности выборок внесли локусы *Pto164* (при 16 выявленных аллелях значение  $\theta_{st}$  оказалось равным 1,22 %) и *Pto286*, (значение  $\theta_{st}$  оказалось равным 2,61 % при пяти выявленных аллельных вариантах). В среднем по всем локусам значение  $\theta_{st}$  оказалось статистически значимым и составило 0,80 % (95 %-ный бутстреп-интервал положительный, нижняя граница 0,33). Анализ генетической изменчивости четырех выборок по шести локусам выявил высокую долю внутривыборочной составляющей – 99,23 %, межвыборочной – 0,77 %. При исключении локусов, вносящих минимальный вклад в дифференциацию выборок, внутривыборочная изменчивость составила 98,13 %, а межвыборочная – 1,87 %. Оценка различий между двумя группами выборок – северной (Берингово море) и южной (тихоокеанские воды, прилегающие к Камчатке), выявила статистически значимые различия между ними. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о невысокой дифференциации выборок северного одноперого терпуга по исследованным микросателлитным локусам. Для дальнейшего исследования генетической структуры данного вида необходимы подбор надежных маркеров популяционной изменчивости, характеризующихся высокой дифференцирующей способностью, а так же увеличение объема материала в анализе.

### C1-04. ОЦЕНКА СВЯЗИ МЕЖДУ ВЕЛИЧИНОЙ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РАЗЛИЧИЙ И ГЕОГРАФИЧЕСКОЙ УДАЛЕННОСТЬЮ ЛОКАЛЬНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ТИХООКЕАНСКОГО ЛОСОСЯ ГОРБУШИ

*Шпигальская Н.Ю. \**, *Косицына А.И.*, *Муравская У.О.*, *Сараванский О.Н.*

ФГУП Камчатский научно-исследовательский институт  
рыбного хозяйства и океанографии  
(Петропавловск-Камчатский), Россия

\*e-mail: shpigalskaya.n.u@kamniro.ru

Среди шести видов тихоокеанских лососей, обитающих на Дальнем Востоке России, горбуша, *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum), отличается наиболее высокой численностью и наличием двухлетнего жизненного цикла, определяющего практически полную репродуктивную изоляцию генераций четных и нечетных лет воспроизводства. Отсутствие единого взгляда на внутривидовую организацию горбуши, различия в оценках точности хоминга, а также выявленная по аллозимным локусам минимальная среди видов тихоокеанских лососей пространственная дифференциация, определили актуальность продолжения популяционно-генетических исследований данного вида. На примере выборок производителей, отобранных в четные – 2004, 2008, 2010 и 2012, годы нереста из 36 рек Западной и Восточной Камчатки, северного побережья Охотского моря, Приморья, островов Беринга, Сахалин и Итуруп произведена оценка зависимости уровня генетических различий горбуши от географической удаленности исследованных локальностей. В качестве популяционно-генетических маркеров использовали комбинированные гаплотипы мтДНК, частоты которых получены на основе ПДРФ-анализа фрагмента *Cytb/D-loop* (эндонуклеазы рестрикции: *DdeI*, *Hin6.I*, *HinfI*, *MspI*, *RsaI*, *Cfr13.I*). Общий объем материала в анализе составил 2294 экз. В исследованных выборках 47 из 80 сайтов рестрикции оказались полиморфными, что позволило определить 42 варианта комбинированных гаплотипов. Показатель *Fst* вычисляли для каждой пары выборок на основе частот комбинированных гаплотипов и наличия рестриктных сайтов в программе Arlequin ver. 2.000. Между всеми нерестовыми водоемами определяли кратчайшие географические расстояния (км). При включении в корреляционный анализ величин *Fst* и расстояний для всех 630 пар выборок положительной статистически достоверной связи не обнаружено ( $r = 0.204$ ,  $P > 0.05$ ). Коэффициент корреляции не достиг уровня статистической значимости и при анализе выборок отдельных регионов. Наибольшим его значение было для горбуши о. Сахалин, но и в этом случае связь между генетической изменчивостью и географической удаленностью выборок оказалась недостоверной ( $r = 0.328$ ,  $P > 0.05$ ). Таким образом, независимо от того, что в значительной части попарных сравнений оценка генетических различий выборок – *Fst*, находится на статистически значимом уровне, связь между данной величиной и географической удаленностью локальных популяций горбуши четной линии воспроизводства не выявлена.

### C1-05. РЕГИОНАЛЬНАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ТИХООКЕАНСКОГО ЛОСОСЯ ГОРБУШИ ПО МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ ЛОКУСАМ

*Муравская У.О. \**, *Шпигальская Н.Ю.*, *Пильганчук О.А.*, *Сараванский О.Н.*

ФГУП Камчатский научно-исследовательский институт  
рыбного хозяйства и океанографии  
(Петропавловск-Камчатский), Россия

\*e-mail: muravskay.u.o@kamniro.ru

Горбуша, *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum), является самым



массовым видом тихоокеанских лососей, отличительная особенность которого заключается в наличии двух генетически изолированных линий — поколения четных и нечетных лет. Наиболее значимые регионы воспроизводства горбуши — это п-ов Камчатка и о. Сахалин. Оценка уровня дифференциации между популяциями указанных регионов на основе микросателлитных локусов является целью данного исследования. Материалом послужили четыре выборки производителей четного и нечетного поколений из популяций п-ова Камчатка (рр. Большая и Хайлюля) и о-ва Сахалин (две выборки из р. Поронай) (общий объем составил 195 экз.). В процессе подбора информативных маркеров, были апробированы 35 микросателлитных локусов ядерной ДНК. Для дальнейшего анализа отобраны 18 локусов — Oke11, Ogo2G, OtsG253b, OtsG85, OtsG68, One114, One105, One111, One103, One109, One104, One102, Omy1011, Omm1070, Omm1037G, Ssa197, Oke3, Ogo8, для которых можно уверенно интерпретировать варианты аллелей. По отобраным маркерам удалось обнаружить 368 аллелей. Наиболее полиморфными оказались локусы OtsG253b, OtsG85, One104, One114, One102, для каждого из них выявлено около 30 аллельных состояний. Наименее изменчивы локусы Oke11, Ogo2G, Omm1037G, Oke3, число аллелей которых не превысило 10. В целом, оценка дифференциации горбуши четных и нечетных лет воспроизводства выявила статистически значимые различия исследуемых выборок по частотам аллелей 18-ти микросателлитных локусов. Однако следует отметить, что значения  $\theta_{st}$  для 4 выборок (1,20) заметно превышают аналогичные значения, полученные в результате раздельного анализа выборок четных и нечетных лет (0,27 и 0,43, соответственно), что отражает, в первую очередь, различия между поколениями, а не межпопуляционную генетическую дифференциацию. Для горбуши нечетных лет воспроизводства показатель  $\theta_{st}$  имел положительные значения по 14 локусам, а для горбуши четных лет по 12 локусам. Точность индивидуальной идентификации особей в выборках нечетных лет по 14 локусам составила 78 %, для четной (по 12 локусам) — 73 %. Анализ генетической изменчивости по 18 локусам выявил очень высокий уровень внутривидовой изменчивости — 99,35 %, межпопуляционной — 0,65 %. Полученные результаты свидетельствуют о том, что в целом региональная дифференциация горбуши по исследованным микросателлитам относительно невысока. В настоящее время работы в направлении расширения набора дифференцирующих популяционных маркеров продолжаются.

#### С1-06. ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ МИНТАЯ ОХОТСКОГО И БЕРИНГОВА МОРЕЙ ПО МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ ЛОКУСАМ

**Савенков В.В. \***, Шпигальская Н.Ю., Пильганчук О.А., Муравская У.О., Сараванский О.Н.  
ФГУП Камчатский научно-исследовательский институт  
рыбного хозяйства и океанографии  
(Петропавловск-Камчатский), Россия  
\*e-mail: savenkov.v.v@kamnir.ru

Минтай *Theragra chalcogramma* — один из самых распространенных и важных в промысловом отношении представителей тресковых видов рыб, обитающих в северной части Тихого океана. На протяжении жизненного цикла минтай совершает продолжительные миграции по всему Дальневосточному бассейну. Несмотря на продолжительный период изучения, вопрос о внутривидовой организации минтая до настоящего времени остается спорным. Целью данного исследования является оценка уровня дифференциации минтая Охотского и Берингова морей на основе аллельной изменчивости микросателлитных локусов. Материалом послужили четыре выборки из нересто-

вых скоплений в Охотском море (залив Шелихова, Притауйский район, акватории Восточного Сахалина и Северных Курильских островов) и одна выборка из Берингова моря. Общий объем материала составил 260 экз. Были исследованы десять микросателлитных локусов (*Gmo3*, *Gmo35*, *Gmo34*, *PGmo32*, *Gmo-G18*, *Gmo-C83*, *Gmo-C86*, *Gma102*, *Gma106*, *Gma108*), в которых выявлено 123 аллельных варианта. Наибольший вклад в дифференциацию выборок внесли локусы *Gmo-G18* (4 аллеля,  $\theta_{st}$  — 1,07 %) и *Gmo-C86* (8 аллелей,  $\theta_{st}$  — 3,44 %). Среднее значение  $\theta_{st}$  составило 0,53 % (95 %-ный бутстреп-интервал положительный, верхняя граница 1,31, нижняя — 0,20). При исключении из анализа локусов, значение  $\theta_{st}$  для которых было ниже 0,50 % (*Gmo3*, *PGmo32*, *Gmo35*, *Gma102*, *Gma106*, *Gmo-C83*), средняя величина данного показателя увеличилась, составив 1,37 % (95 %-ный бутстреп-интервал положительный, верхняя граница 2,60, нижняя — 0,50). Анализ генетической изменчивости выборок по десяти локусам выявил внутривыборочную компоненту на уровне — 99,34 %, межвыборочную — 0,66 %. Для оценки различий между особями Охотского и Берингова морей четыре охотоморские выборки объединили в единую группу. В данном варианте анализа выявлены статистически значимые различия между указанной группой и берингоморской выборкой минтая, доля внутривыборочной изменчивости составила 99,15 %, межвыборочной — 0,85 %. В результате анализа выборок из Охотского моря были выявлены достоверные различия между минтаем Притауйского района и залива Шелихова. В остальных случаях попарных сравнений результаты не достигли уровня статистической значимости. Таким образом, на основе аллельной изменчивости десяти вышеуказанных микросателлитных локусов выявлены достоверные различия минтая Охотского и Берингова морей, а среди охотоморских выборок относительным своеобразием характеризуется самая северная выборка из залива Шелихова. Дальнейшие исследования предполагают как увеличение объема материала в анализе, так и расширение набора информативных микросателлитных локусов.

#### С1-07. ИДЕНТИФИКАЦИЯ СЕЗОННЫХ ФОРМ НЕРКИ *ONCORHYNCHUS NERKA* (WALBAUM) В ТЕЧЕНИЕ НЕРЕСТОВОГО ХОДА В БАССЕЙНЕ р. ОЗЕРНАЯ ПО МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ ЛОКУСАМ

**Пильганчук О.А. \***, Шпигальская Н.Ю., Дубынин В.А., Нигматулина Е.А., Косицына А.И., Варнавская Н.В.  
ФГУП Камчатский научно-исследовательский институт  
рыбного хозяйства и океанографии  
(Петропавловск-Камчатский), Россия  
\*e-mail: pilganchuk.o.a@kamnir.ru

Нерка, *Oncorhynchus nerka* (Walbaum), один из самых ценных видов тихоокеанских лососей. На Камчатке наиболее важное в промысловом отношении стадо данного вида воспроизводится в оз. Курильское, расположенном в бассейне р. Озерная. Для нерки исследуемой локальности характерна сложная популяционная структура, нерестовый ход и нерест сильно растянуты, сезонные периоды четко не выражены. Долгое время существовала точка зрения, что озерновское стадо однородно и представлено только поздней сезонной расой. Анализ частот микросателлитных локусов подтвердил генетические различия между сезонно-экологическими формами нерки оз. Курильское. Проведена идентификация особей в смешанных выборках производителей нерки из уловов закидных неводов в нижнем течении р. Озерная (200 экз.) по частотам пяти микросателлитных локусов (*Ots3*, *Oki1a*, *Oki1b*, *Oki6* и *Ots107*). Реперная база данных аллельных частот анализируемых локусов включает 12 выборок (653 экз.), отобранных на нерестилищах озера в

разное время нереста. Подтверждением достаточно высокой дискриминирующей способности использованных генетических маркеров являются результаты симуляционного анализа выборок по нулевому сценарию, выполненных в программе SPAM, в результате которого получены вероятностные оценки определения принадлежности смешанных выборок. Точность идентификации нерки ранней формы (реперные выборки отобраны не позднее первой недели августа) составила 83.4 %, поздней формы – 84.6 %. В результате проведенной генетической идентификации было показано, что выборка из р. Озерная от 13.07.2010 г. на 84.8 % состоит из особей сходных по анализируемым локусам с реперной группой, образованной выборками раннего периода нереста; выборка от 16.08.2010 г. на 99.6 % состоит из особей генетически сходных с выборками позднего периода нереста. В выборках от 22.07.2010 г. и 02.08.2010 г. максимальная представленность какой-либо из идентифицируемых групп не превышает 59.5 %. Таким образом, полученные данные подтверждают гетерогенность нерестового хода и наличие ранней и поздней форм нерки в бассейне р. Озерная, которые с высокой степенью вероятности могут быть идентифицированы в смешанных выборках из уловов промышленных неводоходов. Результаты могут быть использованы для оптимального распределения промысловой нагрузки с учетом внутривидовой организации нерки бассейна р. Озерная.

#### C1-08. ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ГОЛЬЦА КУНДЖИ *SALVELINUS LEUCOMAENIS* (PALLAS) РОССИЙСКОГО ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА

*Салменкова Е.А.*<sup>\*1</sup>, *Омельченко В.Т.*<sup>2</sup>, *Рубцова Г.А.*<sup>1</sup>, *Афанасьев К.И.*<sup>1</sup>, *Романов Н.С.*<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (Владивосток), Россия

\*e-mail: salm@vigg.ru

Кунджа *Salvelinus leucomaenis* (Pallas) (сем. Salmonidae) – широко распространенный вид гольцов в водоемах Северо-Востока и Дальнего Востока России, представляет собой один из ценных рыбопромысловых резервов региона. В спорных вопросах систематики гольцов кунджа, благодаря своему ясному видовому таксономическому статусу, обычно выступает как пример «хорошего» вида-репера. Популяционно-генетическая структура кунджи исследована нами на основе анализа изменчивости 10 микросателлитных локусов ДНК в 13 выборках из разных районов ареала на Дальнем Востоке России. В нескольких выборках исследовали также изменчивость 21 аллозимного локуса, среди них 5 локусов оказались полиморфными. Установлено, что общий уровень изменчивости по исследованным маркерам соизмерим с таковым у близкого вида гольцов - мальмы. Оценки межпопуляционной генетической дифференциации высоко достоверны в большинстве попарных сравнений выборок. Общие оценки пространственной генетической дифференциации по ареалу у кунджи в  $F_{ST} = 0,203$  и  $R_{ST} = 0,202$ . Кластерный анализ и многомерное шкалирование на основе аллельных частот микросателлитных локусов показывают вероятное подразделение исследованных выборок на две основные группы: северную (представленную регионами: север Хабаровского края, Камчатка, Ямский залив) и южную (регионы: Сахалин, Приморье, Курильские острова). Сходный характер дифференциации демонстрируют и аллозимные данные. Уровни внутривидовой и межпопуляционной генетического разнообразия в южной группе популяций ( $H_S = 0,360$ ,  $F_{ST} = 0,185$ ) выше, чем в северной ( $H_S = 0,342$ ,  $F_{ST} = 0,145$ ). Тест на изоляцию расстоянием не выявляет зна-

чимой корреляции генетических и географических расстояний между выборками. Результаты исследования позволяют предполагать, что популяционно-генетическая структура кунджи сформировалась под влиянием исторических геолого-климатических преобразований ее ареала и под воздействием генетического дрейфа, обусловленного относительно невысокой популяционной численностью и ограниченной по протяженности миграционной активностью ее проходной формы. Южная группа популяций, очевидно, имеет более древнее происхождение относительно популяций северной группы.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Программы фундаментальных исследований РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития» (подпрограмма «Динамика и сохранение генофондов»).

#### C1-09. ЭВОЛЮЦИОННАЯ ЭКОЛОГИЯ КЛОНАЛЬНО-БИСЕСУАЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ЩИПОВОК РОДА *COBITIS* (PISCES, COBITIDAE)

*Васильев В.П.*<sup>1</sup>, *Бобырев А.Е.*<sup>1</sup>, *Лебедева Е.Б.*<sup>1</sup>, *Васильева Е.Д.*<sup>\*2</sup>

<sup>1</sup>Институт проблем экологии и эволюции РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>Московский государственный университет

им. М.В. Ломоносова (Москва), Россия

\*e-mail: vas\_katerina@mail.ru

Открытие клональных позвоночных животных дало начало принципиально новому комплексу эволюционных и экологических исследований. Направления этих исследований могут быть объединены в пять основных блоков: 1) происхождение клональных форм позвоночных; 2) цитогенетические механизмы клонального наследования; 3) клональное разнообразие и его источники; 4) новые генетические системы, отличные от таковых при клональном и бисексуальном размножении; 5) экологические проблемы сосуществования клональных форм, которые могут иметь различный уровень пloidности, и бисексуальных видов. При этом экологические аспекты сосуществования геногенетических и бисексуальных форм остаются наименее изученными и наиболее дискуссионными. Это, прежде всего, касается клонально-бисексуальных комплексов рыб, которые образуют эколого-генетические системы с обратной связью. Для объяснения существующих структур клонально-бисексуальных комплексов рыб рода *Cobitis* (Cobitidae) нами предложены несколько гипотез. Также показано, что принцип «двойного преимущества», который часто используется при анализе эволюционной экологии клональных форм, приложим далеко не для всех клонально-бисексуальных комплексов рыб. Кроме этого, созданная нами математическая модель сосуществования клональной триплоидной формы щиповок и бисексуального вида показала, что существуют автоматические колебания относительной численности во времени диплоидной бисексуальной и моноклональной триплоидной форм. Эти колебания находятся в противофазе, сама же система достаточно устойчива и может существовать неопределенно долгое время даже при полном перекрывании экологических ниш бисексуальной и однополной форм.

#### C1-10. ЭКОЛОГО-МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ИЗМЕНЧИВОСТИ ПРИЗНАКОВ КОЛОРАДСКОГО ЖУКА НА ЮЖНОМ УРАЛЕ

*Сырланова Л.А.*<sup>\*</sup>, *Удалов М.Б.*

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН (Уфа), Россия

\*e-mail: Slian4ik@mail.ru

Колорадский жук *Leptinotarsa decemlineata* Say в отношении изучения механизмов и закономерностей эволюции является

весьма перспективным видом, т.к. отличается очень сложной популяционной структурой и популяционной изменчивостью, широкими мероприятиями по регулированию его численности по всему ареалу. Изучение фенетической структуры популяций во времени и в пространстве дает возможность определить границы между популяциями, а также направления и темп отбора, что необходимо для выяснения особенностей микроэволюции данного вида. Нами проведены исследования по изучению эколого-морфологической изменчивости признаков в 5 локальных популяциях колорадского жука на территории Южного Урала (Республика Башкортостан и Свердловская область) с использованием морфометрического анализа размеров крыла и анализа фенетического полиморфизма в зависимости от половой принадлежности и географического распределения. Измерения параметров крыльев и размеров элементов крылового рисунка проводили по электронным изображениям крыльев с помощью программы Image. Наше исследование полиморфизма рисунков покровов тела имаго направлено на изучение встречаемости вариаций фена пронотума. Анализ основан на классификации Фасулати, включающей две системы пятен в центре – симметрично расположенные центральные линии (medius line, ml), группы передних пятен (anterior maculata, am) и непарного заднего пятна (posterior maculata, pm). На основе полученных частот вариаций фенов рассчитан уровень внутривидового разнообразия (среднее число вариаций  $\mu$ ) и построены изолинии его распределения. В результате проведенных исследований выявлены достоверные различия морфометрических признаков как между локальными популяциями колорадского жука, так и между полами внутри популяции. По рассматриваемым признакам прослеживается четкая клинальная изменчивость. Установлено, что значение длины, ширины и угла между жилками крыла колорадского жука уменьшается по направлению с запада на восток, т. е. от крайней западной в нашем исследовании (село Каран Республики Башкортостан) локальной популяции до восточной (село Арамилы Свердловской области). При этом уровень проявления полиморфизма морфометрических признаков у самцов был более высоким, чем у самок. Фенетический анализ показал, что вариации рисунка пронотума, частоты которых изменяются незначительно, свойственны жукам, успешно выживающим при разнообразных условиях. Направленные изменения частот вариаций свидетельствуют о происходящих в популяциях процессах, связанных с изменениями условий среды. Работа поддержана грантом РФФИ 11-04-01886-а.

#### **C1-11. СРАВНЕНИЕ ПОПУЛЯЦИЙ ОБЫКНОВЕННОЙ ЗЛАКОВОЙ ТЛИ ПО НУКЛЕОТИДНЫМ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯМ ФРАГМЕНТОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА**

***Алпатьева Н.В.*\*, *Абдуллаев Р.А.*, *Радченко Е.Е.***

*Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (Санкт-Петербург), Россия*

\*e-mail: alpatievanatalia@yahoo.com

Значительный полиморфизм митохондриальной ДНК (мтДНК) позволяет использовать отдельные ее фрагменты в качестве маркеров при изучении популяций обыкновенной злаковой тли (*Schizaphis graminum* Rondani). Мы сравнили краснодарскую (Кубанская опытная станция ВИР, Гулькевичский район – КОС ВИР) и дагестанскую (Дагестанская опытная станция ВИР, Дербент – ДОС ВИР) популяции с помощью пиросеквенирования трех фрагментов митохондриального генома общей протяженностью 422 пары нуклеотидов (пн). Эти последовательности ранее были использованы Ф.О. Aikhionbare, Z.B. Mayo для идентификации распространенных в США биотипов

*S. graminum* В, С, Е–I. ДНК выделяли из колоний фитофага, собранных в 30-ти (ДОС ВИР) и 65-ти (КОС ВИР) точках на посевах восприимчивых образцов сорго. По аналогии с праймерами, предложенными американскими учеными, разработали праймеры для амплификации трех областей мтДНК: I (фрагмента гена ND1, межгенного спейсера, tRNA-Leu и фрагмента 16S rRNA длиной 156 пн); II (фрагмент гена cytochrome b, tRNA-Ser и фрагмента ND1 длиной 174 пн); III (фрагмента гена ND4 длиной 92 пн.) Пиросеквенирование проводили на приборе GS Junior от Roche/454 в ЦКП «Геномные технологии и клеточная биология» (ВНИИСХМ РАСХН). В обеих популяциях преобладали (около 80 %) идентичные варианты последовательностей I и II. Полученные данные согласуются с результатами Ф.О. Aikhionbare, Z.B. Mayo, которые характеризуют эти фрагменты как низко- и среднеполиморфные. Наиболее полиморфным оказался фрагмент гена ND4. В краснодарской популяции обнаружено 3 типа последовательностей, встречаемость которых составила 40%, 42% и 18% соответственно. В дагестанской популяции выявлены только два из них (59 % и 41 %). Отметим, что редкий для краснодарской популяции вариант (18 %) распространен в США и обнаружен у биотипов *S. graminum* В, С, Е–I. Таким образом, впервые с помощью пиросеквенирования показаны неоднородность и различие двух популяций обыкновенной злаковой тли по нуклеотидным последовательностям фрагментов митохондриального генома. Работа поддержана РФФИ (грант № 12-04-00710).

#### **C1-12. НИЗКАЯ ЭВОЛЮЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ У ТЛЕЙ (HEMIPTERA: STERNORRHYNCHA: ARNIDOIDEA) КАК ОБЩИЙ ПРИЗНАК ТАКСОНА**

***Воронова Н.В.*\*, *Головнич В.И.*, *Раловец А.Д.*,**

***Курченко В.П.*, *Буга С.В.***

*Белорусский государственный университет (Минск), Беларусь*

\*e-mail: nvoronova@bsu.by

Тли – группа насекомых-фитофагов, отличающихся высокой экологической пластичностью. Тли способны быстро адаптироваться к изменяющимся условиям среды, формировать устойчивость к природным и синтетическим токсинам и колонизировать новые виды растений-хозяев в экстремально короткие сроки. Высокий общий репродуктивный потенциал и способность к клональному размножению составляют базис для быстрых эволюционных преобразований в этом таксоне насекомых. Тем не менее, показано, что высокая экологическая пластичность тлей не подкрепляется столь же высоким базальным уровнем генетической изменчивости. Нами был проведен сравнительный анализ 512 последовательностей 234 видов тлей и 2015 последовательностей насекомых других таксонов 23 митохондриальных (COI, COII, tRNAs) и 1 ядерного (EF1a) генов, а также аминокислотных последовательностей их белок-кодирующих участков. Установлено, что в большинстве случаев внутривидовая и межвидовая изменчивость у тлей была значительно ниже, чем в родственных (другие Hemiptera) и многих неродственных (Coleoptera, Lepidoptera, Hymenoptera) таксонах насекомых. У тлей почти полностью отсутствовали внутривидовые гаплотипы по генам субединиц цитохромоксидазы с, а в случаях их обнаружения, они часто были ассоциированы с подвидами или устойчивыми экологическими расами. Транслируемые аминокислотные последовательности исследованных генов у тлей оказались существенно более консервативны по числу варибельных сайтов, чем это было показано для групп сравнения. Значительная варибельность, в том числе внутри родов, сохранялась только в интронах гена EF1a, в то время как экзоны были высоко консервативны даже при сравнении



последовательностей видов разных семейств. Экзон-интронная структура гена EF1a также была стабильна. Нуклеотидная последовательность и пространственная структура митохондриальных тРНК оказались наиболее сложными маркерами для сравнительного анализа. Динамика эволюционных изменений тРНК была не очевидной. Тем не менее, по результатам компьютерного моделирования показано, что пространственная структура сериновых и лейциновых тРНК у тлей близка к структуре тРНК-Сер и тРНК-Лей старых таксонов членистоногих в большей степени, чем к тРНК ряда молодых таксонов. Однако эти результаты требуют дополнительной проверки. Во всех случаях проанализированные белок-кодирующие последовательности тлей были консервативны. Общая генетическая изменчивость тлей была ниже, чем у близких таксонов, однако данный факт не удалось непосредственно связать с наличием в жизненном цикле тлей партеногенеза или жесткой ассоциацией с растениями-хозяевами.

### C1-13. ИЗМЕНЧИВОСТЬ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИЙ ОБЫКНОВЕННОЙ ЗЛАКОВОЙ ТЛИ

**Радченко Е.Е.**\*, Кузнецова Т.Л., Алпатьева Н.В.

Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: Eugene\_Radchenko@rambler.ru

Обыкновенная злаковая тля *Schizaphis graminum* Rondani – олигофаг, повреждающий злаки преимущественно в южных регионах страны; наиболее значительный ущерб наносит сорго. Для насекомого характерен полиморфизм по вирулентности к образцам зерновых культур. Неоднородность популяций *S. graminum* в странах бывшего СССР впервые обнаружили при изучении устойчивости образцов сорго к восьми европейским и двум азиатским популяциям тли. Выявили относительную изоляцию популяций *S. graminum* из европейской части России и стран Центральной Азии (Узбекистан, Казахстан). Европейские популяции фитофага, по крайней мере, краснодарская и саратовская, различаются по частоте общих фенотипов вирулентности, однако при вспышке массового размножения насекомого фенотипический состав может существенно меняться, видимо, вследствие миграций тли. В 2002–2013 гг. анализировали генетическую структуру краснодарской популяции *S. graminum*. Выявили высокую общую и сезонную изменчивость насекомого по вирулентности к шести образцам сорго, несущим различные гены устойчивости, а также по RAPD маркерам. Установлено, что в период питания на сорго популяция обыкновенной злаковой тли лабильна и по вирулентности к образцам ячменя. Наблюдали отбор из популяции генотипов *S. graminum*, специфически приспособленных к виду растения-хозяина. При размножении на ячмене преимущество в конкуренции имели особи, не обладающие “лишними” генами вирулентности к сорго. Смена хозяина приводила к быстрому накоплению клонов, вирулентных к генам устойчивости сорго *Sgr1* – *Sgr4* и *Sgr12*. При смене хозяина происходит существенное изменение соотношения групп генотипов, близких по профилям RAPD фрагментов. Распределение RAPD маркеров не зависит от аллелей вирулентности насекомого. Выявили влияние слабоекспрессирующейся устойчивости хозяина на генетическую структуру популяции фитофага. Важную роль в сезонной вариации частот фенотипов вирулентности играют абиотические факторы, под воздействием которых может меняться относительная конкурентоспособность клонов тли и, следовательно, изменение условий среды приводит к дифференциальному отбору в популяции фитофага. Плотность популяции *S. graminum* на сорго не влияет на полиморфизм насекомого. Клоны тли с широким спектром вирулентности оказались более приспособлены к выживанию в неблагоприятных условиях. Показано влияние

генов вирулентности, комплементарных эффективным генам устойчивости сорго, на жизнеспособность *S. graminum*. Изменение конкурентоспособности вирулентных клонов при их накоплении в природных популяциях можно рассматривать как результат формирования компенсаторного комплекса, нейтрализующего вредные последствия мутаций вирулентности. Работа поддержана РФФИ (грант № 12-04-00710).

### C1-14. ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ ИНТРОГРЕССИЯ В СИМПАТРИЧЕСКИХ ПОПУЛЯЦИЯХ НАСЕКОМЫХ ДВУХ РОДОВ: *P. CULEX* (CULICIDAE, DIPTERA) И *P. ADALIA* (COLEOPTERA, COCCINELLIDAE)

**Шайкевич Е. В.**\*, Захаров-Гезехус И.А.

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

\*e-mail: elenashaikевич@mail.ru

Исследование генотипов по мтДНК, в комбинации с яДНК маркерами позволили обнаружить интрогрессию мтДНК одних видов в ядерное окружение других видов в комплексе видов кровососущих комаров *Culex pipiens* и у божьих коровок рода *Adalia*. Полиморфизм ДНК среди 55 изученных нуклеотидных последовательностей целого гена COI мтДНК (1538 п.н.) комаров комплекса *Culex pipiens* из удаленных мест сбора позволил выделить 6 митохондриальных гаплотипов, пять из которых были определены нами ранее (Shaikевич and Zakharov, 2010). Мы обозначили их как А, В и С у *C. p. pipiens f. pipiens*, D у *C. p. pipiens f. molestus*, E у *C. p. quinquefasciatus*. У особей из Португалии был обнаружен новый мт-гаплотип, отличающийся от типа E одной нуклеотидной заменой А-С в сайте 830, обозначенный E2. Мт-гаплотипы А и С обнаружены в образцах из России и Германии в одинаковых количествах 6 из 14 (43 %). Мт-гаплотип В встретился только в образцах из России 2 из 14 (14 %). Митотип А характерен также особям из лабораторной линии *C. p. pallens*. Мт-гаплотип D отличается абсолютным мономорфизмом у всех 23 исследованных особей из географически удаленных мест сбора от Туниса на юге, до Карелии на севере и Томска на востоке были обнаружены две фиксированные замены в позициях 119 и 896 в полных последовательностях гена COI. Мт-гаплотип E, характерный для *C. p. quinquefasciatus*, встретился нам в сборах из Португалии, Греции, Израиля и Италии. У образцов из Португалии был обнаружен вариант E2. Дальнейший анализ проводили с помощью метода ПЦР-ПДРФ. С помощью метода ПЦР-ПДРФ гена COI было проверено 639 особи из 35 географически удаленных мест сбора. Распределение мт-гаплотипов демонстрирует выраженную географическую ориентацию. Мт-гаплотипы E и E2, обнаруженные в популяциях Средиземноморья и в тропических странах, не встречаются в северных странах. Мт-гаплотипы А, В, С и D встречаются в странах умеренного климата и на севере Африки, но (по литературным данным) не встречаются в зоне тропиков. Таким образом, север Африки выступает как зона перекрытия ареалов этих мт-гаплотипов. По результатам анализа полиморфизма ДНК гена COI мтДНК и симбиотической бактерии *Wolbachia pipientis*, второго интрона гена ацетилхолинэстеразы II и микросателлитного маркера CQ11 у комаров комплекса *Culex pipiens* выявлены случаи интрогрессии цитоплазматических компонентов *Culex p. quinquefasciatus* в клетки *Culex p. pipiens* в районе Средиземноморья. Среди четырех изученных видов жуков рода *Adalia* наиболее эволюционно близкими являются *A. bipunctata* и *A. frigida*. *A. frigida* обитает на севере Евразии, от Скандинавии до Якутии. По нашим наблюдениям в Архангельске *A. bipunctata* и *A. frigida* обитают совместно. Степень их репродуктивной изоляции до конца не известна. На основании анализа ДНК данные виды различаются по составу ITS2 на 1,8 %, COI на 4 %. При этом *A. frigida* из Архангельска

и Якутии идентичны между собой по составу ДНК. Анализ нуклеотидных последовательностей COI и ITS2 у божьих коровок морфологически схожих с *A. frigida* из Читы и Якутска выявил случаи митохондриальной интрогрессии среди *A. bipunctata* и *A. frigida*, что свидетельствует о возможности скрещивания между данными видами в природе.

#### C1-15. ИДЕНТИФИКАЦИЯ ТРАНСПОЗИЦИОННО АКТИВНОГО ПОДСЕМЕЙСТВА РЕТРОТРАНСПОЗОНОВ *DROSOPHILA VIRILIS* Tv1

Андрянов Б.В.\*, Романов Д.А., Горелова Т.В.

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва)  
Россия

\*e-mail: andrianovb@mail.ru

Проведен сравнительный анализ новых инсерций ретротранспозона Tv1 в геноме лабораторных линий мух *Drosophila virilis*, первичной и пересееваемой клеточных линиях *D. virilis*. Новые инсерции Tv1 выявляли благодаря свойству данного ретротранспозона встраиваться сайт-специфично в последовательности микросателлитов (AT)<sub>n</sub>, которые у *D. virilis* ассоциированы с псевдогенами митохондриального происхождения, называемыми намт-последовательностями, или просто намт. В геноме пересееваемой клеточной линии выявлен перенос митохондриальной ДНК из митохондрий в ядро и формирование намтов atp6 и сох3, ассоциированных с инсерциями ретротранспозона Tv1. Из 12 доказанных случаев независимых инсерций Tv1, 11 вызваны транспозицией только одного молодого подсемейства ретротранспозонов Tv1. Все новые инсерции Tv1, за исключением двух произошли в молодые намт-последовательности возникшие в пересееваемой клеточной культуре и только в двух случаях инсерция Tv1 произошла в (AT)<sub>n</sub> микросателлит ассоциированный со старыми сох3 намт-последовательностями, существующими в геноме мух, но без ассоциации с Tv1. Возникновение новых намтов и транспозиции Tv1 выявлены только в пересееваемой клеточной линии, но не обнаружены в первичной культуре эмбриональных клеток *D. virilis* и при сравнении линий мух *D. virilis* различного географического происхождения. Полученные данные позволяют сделать вывод об ослаблении контроля за ретротранспозицией в трансформированной культуре клеток *D. virilis* с неограниченным ростом. Специфические дубликации длиной 40 н.п. в структуре промотора транспозиционно активного подсемейства ретротранспозона Tv1 характерны для сайтов связывания стероидных гормонов. Наличие таких сайтов, возможно, определяет повышенный уровень транскрипции данного подсемейства Tv1 в клетках пересееваемой культуры и определяет его способность к ретротранспозиции. Работа поддержана грантом РФФИ 11-04-01630.

#### C1-16. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ГЕНА *LIM3*, КОНТРОЛИРУЮЩЕГО РАЗВИТИЕ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ, В ПОПУЛЯЦИЯХ *DROSOPHILA MELANOGASTER*, ОБИТАЮЩИХ В РАЗЛИЧНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

Веселкина Е.Р.\*, Рыбина О.Ю., Симоненко А.В., Алаторцев В.Е., Рощина Н.В., Пасюкова Е.Г.

ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН (Москва),  
Россия

\*e-mail: veselkinaer@gmail.com

Исследование существующей в природе изменчивости жизненно-важных генов позволяет пролить свет на молекулярные механизмы, определяющие особенности их работы в организме. Ген *Lim3* играет ключевую роль в развитии нервной системы

и специализации нейронов дрозофилы, птиц и млекопитающих. В докладе представлены данные, позволяющие охарактеризовать сравнительную изменчивость регуляторной области функционально важного транскрипта гена *Lim3*, *Lim3A*, в двух популяциях (Александров, Россия и Raleigh, США), обитающих в различных экологических условиях и географических районах. Сравнение последовательностей нуклеотидов исследуемого района из популяции Александров 2010 года и популяции Александров 2011 года показало, что в обоих случаях уровень изменчивости нетранслируемой области гена существенно ниже уровня изменчивости 5' регуляторной области, прилегающей к старту транскрипции. В целом изменчивость регуляторной области *Lim3A* находится в пределах, характерных для *Drosophila melanogaster*. По качественным и количественным показателям изменчивости заметных различий между выборками разных лет не выявлено. Изменчивость регуляторной области *Lim3A* в популяции Raleigh 1999 года была описана нами ранее. Кроме того, для сравнения мы проанализировали последовательности того же района в популяции Raleigh 2003 года, определенную в лаборатории Труди Маккей (Государственный университет Северной Каролины, США). Сравнение генетической изменчивости в двух популяциях позволяет говорить о существенном сходстве паттернов полиморфных сайтов. Сходство изменчивости в двух исследованных популяциях может свидетельствовать о существовании общих предков, у которых она возникла, и о сохранении ее в различных условиях обитания, что указывает на нейтральность выявленных полиморфных вариантов в отношении климатических и географических факторов. В то же время, нельзя исключить, что миграция *Drosophila melanogaster*, обусловленная, например, перевозкой фруктов по всему миру, нивелирует различия между отдельными популяциями. Наиболее интересным представляется предположение о том, что замены нуклеотидов в определенных сайтах регуляторной области, одинаковые в различных популяциях мух с неперекрывающимися ареалами обитания, могут играть важную роль в регуляции экспрессии генов, определять уровень адаптации всей популяции и потому поддерживаться отбором. Два полиморфных сайта характерны только для популяции Александров. Воспроизводимое появление характерных полиморфных вариантов в течение двух лет указывает на стабильность существования популяции на северной границе ареала вида *Drosophila melanogaster*.

#### C1-17. ИЗМЕНЧИВОСТЬ НЕКОДИРУЮЩИХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ГЕНА *DRAS1* ДРОЗОФИЛ ГРУППЫ *VIRILIS*

Сивопляс Е.А.\*<sup>2</sup>, Чекунова А.И.<sup>1</sup>, Прошаков П.А.<sup>1</sup>, Барсуков М.И.<sup>2</sup>, Митрофанов В.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Московский педагогический государственный университет (Москва), Россия

\* e-mail: sivoplyas-ekater@mail.ru

В нашей лаборатории проводится исследование генетической изменчивости признаков, связанных с видообразованием. Одним из направлений является исследование изменчивости высоко консервативного гена *Dras1* у *Drosophila* группы *virilis*. Продукт экспрессии гена *Dras1* – белок Ras1 участвует в регуляции митотической активности клеток. Изменчивость таких генов может оказаться полезной для оценки филогенетического родства таксонов (в том числе и близких), поскольку благодаря действию сильного стабилизирующего отбора наблюдаемую изменчивость можно считать полностью нейтральной. Объектом исследования являются 12 близкородственных видов дрозофил (имеющиеся в коллекции ИБР РАН) относящиеся к группе видов *virilis*. Данная группа

традиционно является модельной для изучения ранних этапов видообразования. Филогенетические отношения в данной группе хорошо изучены по ряду морфологических, поведенческих, хромосомных и молекулярных признаков. На основании этих исследований группу видов *virilis* можно подразделить на две филлады: *virilis* (включающую виды *D. virilis*, *D. americana*, *D. novamexicana*, *D. lummei*) и *montana* (включающую виды *D. montana*, *D. laticola*, *D. borealis*, *D. flavomontana*, *D. kanekoi*, *D. ezoana* и *D. littoralis*). Мы проанализировали изменчивость кодирующей области, интронов, 5'- и 3'-UTR, предпромоторной области гена *Dras1*. В данной работе приводится сравнительный анализ изменчивости предпромоторной области и 3'-нетранслируемого района: а) в предпромоторной области длиной 912 нуклеотидов обнаружен 91 переменный сайт, из них 81 является филогенетически значимым. 25 полиморфных сайтов позволяют объединить виды филлады *montana* в один кластер. Количество транзаций преобладает на данном участке над количеством трансверсий с соотношением 0,74. б) для 3'-концевого фрагмента длиной 329 нуклеотидов обнаружено 14 переменных сайтов, из них 6 являются филогенетически значимыми. Количество транзаций преобладает на данном участке над количеством трансверсий с соотношением 0,75. Результаты исследования показали, что в области 3'-концевого района и предпромоторной области гена *Dras1* наблюдается более высокий уровень полиморфизма, чем в кодирующей последовательности. Построенная по результатам анализа NJ-дендрограмма в целом не противоречит общепринятой филогении Трокмортон. Данная работа поддержана грантом РФФИ № 12-04-00926 и Программой Президиума РАН "Живая природа".

#### C1-18. УЧАСТИЕ ГЕНА *GRP*, ГЕНОМНОГО ГОМОЛОГА ГЕНА *GAG* РЕТРОТРАНСПОЗОНОВ ГРУППЫ *GYPSY*, В ЗАЩИТЕ ОТ РЕТРОВИРУСОВ У ДРОЗОФИЛЫ

Нефедова Л.Н. <sup>\*,1</sup>, Кузьмин И.В. <sup>1</sup>, Махновский П.А. <sup>1</sup>, Лавренов А.Р. <sup>1,2</sup>, Урусов Ф.А. <sup>1</sup>, Романова Н.И. <sup>1</sup>, Ким А.И. <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва), Россия;

<sup>2</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (Москва), Россия

\*e-mail: lidia\_nefedova@mail.ru

Гены ретроэлементов в ходе эволюции могут приобретать важные функции для организма-хозяина. Известно, что гены млекопитающих, такие как *syncitin*, необходимый для формирования плаценты, и *Fv1*, участвующий в ограничении размножения ретровирусов, являются гомологами генов *env* и *gag*, соответственно, ДКП-ретротранспозонов и ретровирусов. У *Drosophila melanogaster* известен единственный гомолог гена *gag* — ген *Grp* (*gag-related protein*), идентифицированный в нашей лаборатории. Ген *Grp* экспрессируется преимущественно в соматических тканях взрослых мух, при этом уровень экспрессии у самцов выше, чем у самок. Предполагается, что *Grp* может участвовать в защите от ретровирусов подобно гену *Fv1*. Целью нашей работы было сравнение экспрессии гена *Grp* на уровне транскрипции в линиях *D. melanogaster* SS и MS с помощью количественной ОТ-ПЦР. Эти линии характеризуются мутацией в локусе *flamenco*, приводящей к нарушению контроля транспозиции ретроэлементов. Кроме того, линия MS содержит полноразмерную копию эндогенного ретровируса *gypsy*. Нами обнаружено, что самцы дрозофилы обеих линий имеют одинаковый уровень экспрессии гена *Grp*, в то время как у самок линии MS уровень экспрессии *Grp* вдвое выше, чем у самок SS. Таким образом, наличие активной копии *gypsy* приводит к увеличению экспрессии *Grp* только у самок дрозофилы. Также у самок обеих линий было проведено исследование экспрессии гена *Grp* и эндогенного ретровируса *gypsy* в яичниках, кишечнике и тканях, которые остаются пос-

ле выделения этих органов (корпус). В яичниках самок обеих линий РНК гена *Grp* обнаруживается в следовых количествах, тогда как уровень экспрессии *Grp* в тканях кишечника и корпуса достаточно высокий, при этом различия между линиями обусловлены повышенным уровнем экспрессии *Grp* в корпусе линии MS по сравнению с SS. Уровень экспрессии *gypsy* во всех исследованных тканях линии MS примерно одинаковый и более чем в пять раз выше уровня экспрессии в линии SS. Таким образом, экспрессия гена *Grp* индуцируется наличием активного ретровируса *gypsy*. Вероятно, *Grp* участвует в защите соматических тканей дрозофилы от ретровирусов.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (гранты № 12-04-31457 мол\_а, № 11-04-00403-а).

#### C1-19. КАРИОЛОГИЯ ЛИЧИНОК ХИРОНОМИД (DIPTERA, CHIRONOMIDAE) О. КУНАШИР (КУРИЛЬСКАЯ ГРЯДА)

Петрова Н.А. <sup>\*</sup>, Жиров С.В.

ФГБУН Зоологический институт РАН (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: chironom@zin.ru

О. Кунашир является самым южным островом Курильской гряды Дальнего Востока России со сложным рельефом и уникальным климатом, формирующимся при участии вулканической и гидротермальной активности. Озера на острове располагаются на высоте до 50 м у.м. Личинки хирономид IV возраста собирали в трех из них, расположенных в южной половине острова. Из слюнных желез зафиксированных личинок готовили давленные препараты политенных хромосом, окрашенных ацетоорсеином. Исследовали кариотипы 6-ти видов хирономид, идентифицированных по особенностям кариотипа и морфологическим характеристикам личинок. Каждое из озер характеризовалось собственной уникальной фауной хирономид. Оз. Лагунное представляет собой пресноводную лагуну, отделенную перешейком от Кунаширского пролива. Встреченные виды: 1) *Nilothauma sasai* Adam & Saether 1999. 2n = 8, 2n = 8+B. 4 ядрышка (NOR), 3 кольца Бальвиани (BR), множественные PP (пуффы). Кариотип описывается впервые. Изучено 14 личинок. Обнаружен полиморфизм по гетерозиготным инверсиям. Вид широко распространен на Дальнем Востоке (Макарченко и др., 2005); 2) *Polypedilum* sp. 1. 2n = 8. 1 NOR, 2 BR. Изучена 1 личинка; 3) *Demicryptochironomus* sp. 2n = 6. 1 NOR, 1 BR. Изучено 15 личинок. В кунаширской популяции вид мономорфен, в то время как в популяциях из других мест вид характеризуется высоким уровнем полиморфизма по хромосомным перестройкам; 4) *Dicrotendipes* sp. 2n=8. 1 NOR, 2 BR. Изучена единственная личинка. По морфологическим признакам личинки удалось определить данный вид, принадлежащий к роду *Dicrotendipes*. Другое озеро Песчаное сообщается с Южно-Курильским проливом заболоченной протокой. Встреченный вид - *Glyptotendipes* sp. 2. 2n = 8. 1 NOR, 3 BR, множественные PP. Изучена 1 личинка. По кариотипическим характеристикам напоминает *G. pallens*, но однозначного соответствия нет. Гомологи IV хромосомы во всех клетках нескопьюгированы, в каждой из больших хромосом наблюдается локальный асиапис. И наконец озеро Горячее (t = 30-35o) расположено у подножья вулкана Головинна, подпитывается термальными водами. Встреченный вид – *Polypedilum* sp. 2. 2n = 8. 1 NOR, 2 BR. Ядрышко расположено в середине одной из больших политенных хромосом. Гомокариотип. Изучено 7 личинок. Кариотип описывается впервые. Учитывая значительную долю неизвестных кариотипов в сборах, напрашивается вывод о необходимости комплексного изучения фауны хирономид о. Кунашир, в том числе с использованием кариологического метода. Особенно это касается водоемов северной части острова.



Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Генофонды и генетическое разнообразие природных популяций» и Программы фундаментальных исследований ОБН РАН «Происхождение биосферы и эволюция гео-биологических систем».

#### C1-20. ОСОБЕННОСТИ МИКРО- И МАКРОЭВОЛЮЦИИ ПЕЧЕНОЧНЫХ СОСАЛЬЩИКОВ *FASCIOLA HEPATICA* И *F. GIGANTICA* (ТРЕМАТОДА)

**Гуляев А.С.**<sup>\*1</sup>, **Лопаткин А.А.**<sup>1</sup>, **Васильев В.А.**<sup>1</sup>, **Хрисанфова Г.Г.**<sup>1</sup>, **Мовсесян С.О.**<sup>3</sup>, **Горохов В.В.**<sup>2</sup>, **Москвин А.С.**<sup>2</sup>, **Архипов И.А.**<sup>2</sup>, **Семёнова С.К.**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии гена РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Всероссийский научно-исследовательский институт гельминтологии им. К.И. Скрябина РАСХН (Москва), Россия;

<sup>3</sup>ФГБУН Центр паразитологии Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН (Москва), Россия

\*e-mail: andrewgull87@gmail.com

Печеночные сосальщики, как и другие трематоды, имеют сложный жизненный цикл, включающий смену нескольких животных-хозяев. Следствием этого является сложная эволюционная история этих видов, сопряженная с хозяйственной деятельностью человека. Ранее на частичных последовательностях митохондриальных генов *nad1* (429 п.н.) и *cox1* (316 п.н.) 119 червей из 20 локальностей (Южная и Восточная Европа, Средняя Азия и Дальний Восток) было показано существование двух генеалогических линий фасциол. Первая (I) из них распространена преимущественно в азиатской части континента, вторая (II) – в европейской. В данном исследовании на основании суммарных полных последовательностей мт-генов *nad1* и *cox1* (2436 п.н.) 70 марит из России (n = 17), Белоруссии (n = 4), Болгарии (n = 4), Армении (n = 23), Эквадора (n = 10) и Австралии (n=2) показана правомочность выделения двух линий, а также двух сублиний в Эквадоре (IIa) и Армении (Ia). Кроме того, для оценки геномной дивергенции между видами и линиями впервые проанализированы полные кодирующие последовательности мт-генома (12 генов, кодирующих белок, 2 гена рРНК и 22 гена тРНК) четырех марит *F. hepatica* (по одному представителю из каждой линии и подлинии) и двух марит *F. gigantica*. Межлинейная дивергенция полных белок-кодирующих последовательностей составила 4,5%, межвидовая — 12,5 %. Даны популяционно-генетические характеристики исследованных групп, обсуждаются эволюционные сценарии происхождения и распространения линий, возможность возникновения межлинейных гибридов, время дивергенции линий и их таксономический статус.

#### C1-21. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЕСТЕСТВЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ЕЛИ (*PICEA ABIES* (L.) KARST.) И ЛЕСОПОСАДОК ИЗ ПОДМОСКОВЬЯ ПО СОСТОЯНИЮ ГЕНОФОНДА И СТЕПЕНИ ПОРАЖЕННОСТИ КОРЕОДОМ (*IPS TYROGRAPPHUS* L.)

**Макеева В.М.**<sup>\*1</sup>, **Смуров А.В.**<sup>1</sup>, **Политов Д.В.**<sup>2</sup>, **Белоконь М.М.**<sup>2</sup>, **Белоконь Ю.М.**<sup>2</sup>, **Сулова Е.Г.**<sup>1</sup>, **Калинин А.А.**<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ФБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия;

<sup>3</sup>Некоммерческая организация природоохранный фонд «Верховье» (Москва), Россия

\*e-mail: vmmakeeva@yandex.ru

Исследовано состояние генофонда (аллельное разнообразие) и степень пораженности короедом-типографом четырех популяций

ели в двух районах Подмосковья: Одинцовском (городской округ Звенигород) и Раменском (Городское поселение Кратово). В каждом районе обследовано по одной условно коренной эталонной популяции естественного происхождения, разновозрастной, с подлеском, возрастом 100–170 лет, степень пораженности короедом 0 %. В Кратово также обследованы трансформированные елово-сосновые лесопосадки возрастом более 90 лет, находящиеся на расстоянии 5 км от эталонной популяции. Поражение типографом ели не менее 90 %. В Звенигороде – короткопроизводные еловые и осиново-березово-еловые леса возрастом 70–90 лет, на расстоянии 760 метров, поражение типографом не более 15–20 %. Из каждой популяции обследовано по 37 деревьев по 13 ферментным системам, контролируемым 24 генетическими локусами. Получены следующие результаты: коренные популяции из двух районов Московской области не отличаются между собой (при  $p = 0,05$ ) по совокупности частот аллелей. Выявленные генетические показатели близки к показателям природных популяций Центрального региона Восточно-Европейской части лесной зоны. В Кратово пораженная короедом популяция достоверно отличается ( $p = 0,05$ ) от коренной как по совокупности всех локусов, так по трем предположительно адаптивным локусам (*Fe-2*, *Idh-1*, *Mdh-3*). В Звенигороде незначительно пораженная короедом популяция, достоверно отличается от коренной ( $p = 0,01$ ) по двум, предположительно адаптивным локусам (*Gdh*, *Idh-1*). Достоверных различий по степени гетерозиготности между здоровыми и пораженными популяциями не найдено. Однако, в пораженных популяциях значение коэффициента инбридинга значительно выше, чем в здоровых популяциях (для локусов *Idh-1*, *Lap-1*). Таким образом, условно коренные популяции ели более устойчивы к поражению короедом, по сравнению с лесопосадками. Результаты исследования позволяют сделать следующее заключение: современная стратегия управления лесами должна быть ориентирована на сохранение «оптимального» генетического разнообразия популяций, характерного для данной природной зоны, наряду с сохранением максимального видового богатства, разновозрастности и других характеристик естественных лесов, определяющих пространственную сопряженность между всеми факторами системной организации природного комплекса.

#### C1-22. ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ РОДА *MALUS* ПО САЙТАМ ИНТЕГРАЦИИ LTR-РЕТРОТРАНСПОЗОНОВ AJ291492 И AY603367

**Савельева Е.Н.**<sup>\*1</sup>, **Калегина А.В.**<sup>1</sup>, **Кудрявцев А.М.**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт общей генетики РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Московский государственный университет (Москва), Россия

\*e-mail: ekaterina.n.saveleva@gmail.com

Проведена оценка генетического разнообразия 138 представителей различных видов рода *Malus* и сортов *M. domestica* из крупнейших отечественных коллекций видов и сортов яблони и анализ их филогенетических отношений на межвидовом и внутривидовом уровне. Для проведения анализа использовали генетические маркеры, основанные на полиморфизме по сайтам интеграции LTR – ретротранспозонов (LTR-RT), выявляемые методом SSAP (Sequence-Specific Amplification Polymorphism). Данные маркеры высокоинформативны и удобны при проведении филогенетических исследований. Для работы из открытых источников были выбраны два LTR-ретротранспозона: Ty3-gypsy-like (AJ291492) и TRIM (AY603367), к LTR которых и были подобраны концевые праймеры. В целом удалось идентифицировать 679 полиморфных фрагментов. Для выявления филогенетических отношений исследованных образцов была проведена их кластеризация методом Neighbor Joining. Сорты яблони вида *M. domestica* образовали обширный кластер вместе с образцами вида *M. sylvestris*, который

очевидно участвовал в формировании генофонда домашней яблони. Установлено, что сортотипы народной селекции Антоновки представляют собой генетически разнородную группу, но достоверно относятся к виду *M. domestica*, хотя показывают значительные различия в сайтах встраивания исследованных LTR-RT. Это может указывать на их давнюю дивергенцию. Показано, что сорт яблони Якутская не относится к *M. domestica*, а скорее принадлежит виду *M. baccata*, поскольку группируется вместе с образцами этого вида. Кластеризация дикорастущих видов на дендрограммах соответствует их географическому распространению, например, яблони *M. sachalinensis* и *M. manshurica* формируют отдельную группу, очевидно, по родственному происхождению (Восточная Азия), так же как и виды *M. ringo*, *M. Ch. spectabilis* и *M. Ch. robusta*. Родительские виды и межвидовые гибриды также кластеризуются вместе, например, виды *M. Ch. zumi* и *M. sieboldii* (*M. Ch. zumi* является межвидовым гибридом с участием *M. sieboldii*). И наконец, вместе группируются образцы одного вида из разных коллекций или с разными каталожными номерами. Таким образом, были проанализированы филогенетические отношения на межвидовом и внутривидовом уровнях различных образцов рода *Malus* с использованием SSAP-маркеров, кроме того, была установлена видовая принадлежность сортотипов Антоновки и сорта яблони Якутская.

#### C1-23. ОТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ АЛЛЕЛЬНОГО СОСТАВА БОЛОТНЫХ И СУХОДОЛЬНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ *P. SYLVESTRIS* L. В ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

**Черепанова О.Е.**

ФГБУН Ботанический сад УрО РАН (Екатеринбург), Россия  
e-mail: botgarden.olga@gmail.com

Верховые болота эпохи голоцена занимают около половины территории Западной Сибири, представляя совершенно новую, по сравнению с суходолами, среду для возобновления, роста и последующего развития популяций сосны, расселившихся здесь в послеледниковый период. Изучение аллельной структуры *Pinus sylvestris* L. проводили в средней, южной тайге и предлесостепи Западной Сибири на верховых болотах и прилегающих суходолах (по 48 деревьев в каждом экотопе), произрастающих на расстоянии 550 м друг от друга. Аллозимный анализ проводили по общепринятым методикам в вертикальных пластинках ПААГ с небольшими модификациями. Ранее уже было отмечены существенные различия в аллельном составе болотных и суходольных популяций сосны, произрастающих на территории Западной Сибири. Нами выявлено увеличение частот следующих ферментных систем: *DIA-2*, *FDH*, *6-P*. Частота *FDH* (2) почти в два раза ниже в олиготрофной популяции, чем на смежном суходоле в подзоне предлесостепи, а в средней тайге частота данной ферментной системы на олиготрофном болоте почти в 4 раза ниже, чем на смежном суходоле. На олиготрофных болотах средней тайги и предлесостепи Западной Сибири нами в ферментной системе *DIA-2* отмечен локус 5, а в ферментной системе *6-P* обнаружен локус 3 на олиготрофных болотах в средней тайге и в подзоне предлесостепи, но частота его незначительна (в среднем около 0.010). Средние генетические дистанции  $(DN_{78})$  между популяциями *P. sylvestris* на суходолах и смежных олиготрофных болотах во всех изучавшихся подзонах Западной Сибири в большинстве случаев достоверно выше (0.008-0.010), чем на суходолах (0.003-0.006), а их градиенты в несколько раз выше ( $1650-3900 \cdot 10^{-5}$ ), чем между смежными популяциями сосны на суходолах ( $74-200 \cdot 10^{-5}$ ). Генетические дистанции между популяциями сосны на суходолах и верховых болотах в средней тайге Западной Сибири достоверно ( $t_{ST}=21$ , при  $p \leq 0,05$ ) ниже генетических дистанций в южной тайге Западной Сибири, а в предлесостепи – достоверно больше ( $t_{ST}=14.71$ , при  $p \leq 0.001$ ), чем в средней тайге.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы Президиума РАН (проект № 12-П-4-1060).

#### C1-24. ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ SSR-АЛЛЕЛЕЙ КОСТОЧКОВЫХ КУЛЬТУР

**Урбанович О.Ю. \***, Кузмицкая П.В., Козловская З.А.

ГНУ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (Минск), Беларусь;

РУП Институт плодоводства (Минск), Беларусь

\*e-mail: O.Urbanovich@jgc.bas-net.by

Косточковые являются важными плодовыми культурами, выращиваемыми в странах с умеренным климатом. Создано огромное разнообразие сортов вишни, черешни, сливы, абрикоса. Они отличаются по многим морфологическим признакам, таким как форма, окраска, вкус плодов, сроки созревания, зимостойкость и другим. Различия их геномов на молекулярном уровне изучены в меньшей степени. В представленном исследовании генетическое разнообразие сортов вишни обыкновенной, черешни, сливы домашней, сливы диплоидной, абрикоса, выращиваемых в Беларуси, было исследовано с помощью молекулярных маркеров SSR-типа. В общей сложности использовано 24 SSR-маркера, первоначально разработанных для генома персика и черешни. В геноме 106 образцов косточковых культур идентифицировано 506 аллелей, в том числе среди образцов черешни – 93, вишни – 154, сливы диплоидной – 227, сливы домашней – 275, абрикоса – 124. Черешня, сливы диплоидные и абрикос являются диплоидными видами. Используемые в исследовании SSR маркеры в их геноме характеризовались как монолокусные. Вишня обыкновенная и слива домашняя являются полиплоидными видами. В геноме этих видов индивидуальные маркеры могли выявлять до 6 аллелей, т. е. имели до трех сайтов связывания. SSR маркеры, разработанные как для генома персика, так и для генома черешни, находили сайты связывания в геноме всех рассмотренных видов, а также в геноме терна и межвидовых гибридов, что говорит о тесной генетической связи косточковых культур. Выявлены маркеры, характеризующиеся высоким уровнем полиморфизма SSR-аллелей в геноме сортов разных видов косточковых культур. Показано высокое генетическое разнообразие локусов микросателлитных последовательностей сортов вишни обыкновенной, черешни, сливы домашней, сливы диплоидной, абрикоса. Определен набор SSR-маркеров, позволяющий проводить идентификацию сортов косточковых культур. На основе анализа состава SSR-аллелей разработаны молекулярно-генетические паспорта отдельных сортов косточковых культур, выращиваемых в Беларуси. Каждый генотип представлен уникальной комбинацией аллелей в локусах микросателлитных последовательностей, позволяющей отличить его от других генотипов. Метод ДНК-идентификации соответствует критериям отличимости, однородности и стабильности ООС-теста. Метод может быть использован в селекции косточковых культур, для охраны авторских прав селекционных учреждений, выявления и сохранения уникального коллекционного материала.

#### C1-25. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ СУПРЕССИРОВАННОЙ ТЕМПЕРАТУРОЗАВИСИМОЙ ХЛОРОФИЛЛДЕФЕКТИВНОСТИ У *FESTUCA PRATENSIS* HUDS.

**Лебедева О.Н. \***, Николаевская Т.С., Тутов А.Ф.

ФГБУ Институт биологии Карельского научного центра РАН (Петрозаводск), Россия

\*e-mail: lebedeva@krc.karelia.ru

Изучены роль генетической (тип мутагенеза и способ использования мутагенов) и эпигенетической (условия формирова-



ния растений в предшествующей генерации) составляющих в формировании естественного генетического груза (проростки с супрессированной хлорофиллдефектностью), а также приспособленность (выживаемость и плодовитость) М5-мутантных потомств многолетнего перекрестноопыляющегося злака *Festuca pratensis* Huds. Выявлена сложная картина регуляции экспрессии мутантного гена и гена-супрессора, контролирующей температурозависимую супрессированную хлорофиллдефектность. Показано существенное влияние на формирование генетического груза у М5-мутантных потомств, сформировавшихся при различных уровнях почвенного питания материнских растений, эпистатического действия мутантного гена и гена-супрессора. Эпигенетическая составляющая изменчивости величины генетического груза М5-мутантных потомств, обусловленная различными условиями почвенного питания материнских растений, проявляется как в изменении эффектов взаимодействия мутантного гена и гена-супрессора в условиях де- и ресупрессии, так и в изменении интенсивности давления естественного отбора на величину пула депигментированных проростков, выживаемость и плодовитость растений. Выявлен одинаковый и низкий уровень значений общей выживаемости, а также показана зависимость относительной (контрольной популяции) выживаемости М5-потомств от уровня почвенного питания материнских растений. Относительная выживаемость возрастает в направлении высокий–низкий–умеренный фон почвенного питания материнских растений. М5-потомства характеризуются высокими значениями общей плодовитости. Максимальное значение общей и относительной плодовитости установлено для растений, сформировавшихся на низком уровне почвенного питания материнских растений. Эпигенетический фактор может вызывать значительное повышение значений приспособленности М5-потомств относительно контрольной популяции. При всех изученных уровнях почвенного питания (высоком, умеренном и низком) в отношении частоты особей в экспериментальном пуле проростков с фенотипом *xantha* стабилизирующий отбор действует менее жестко, чем с фенотипами *albina* и *viridis*, а при высоком уровне – и по сравнению с *w-type*. У растений с фенотипом *viridis* стабилизация признака происходит при высоком, а с фенотипом *albina* – при низком и умеренном фонах. Высокий уровень почвенного питания сохраняет от действия отбора особи, которые формируют потомство, характеризующееся высокими значениями частот проростков с глубокими типами депигментации: *xantha* и *albina*. Умеренный почвенный уровень культивирования растений создает наиболее жесткий селективный фон для всех хлорофиллдефектных фенотипов. Интенсивность действия стабилизирующего отбора в отношении компонентов выживаемости определялась как исследуемым признаком, генетическими особенностями мутантных потомств и условиями почвенного питания материнских растений.

#### C1-26. СТРУКТУРА И МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГОРДЕИН-КОДИРУЮЩИХ ЛОКУСОВ В ПОПУЛЯЦИЯХ МЕСТНЫХ СОРТОВ КУЛЬТУРНОГО ЯЧМЕНЯ *HORDEUM VULGARE* L.

*Дялина Е.В.*<sup>\* 1</sup>, *Мартынов С.П.*<sup>2</sup>, *Поморцев А.А.*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ГНУ Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова РАСХН (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: lialina7@yandex.ru

Гордеины – запасные спирторастворимые белки зерновки ячменя являются удобными генетическими маркерами для популяционных исследований благодаря большому полиморфизму, не

уступающему некоторым типам молекулярных маркеров. Генетический контроль гордеинов наиболее полно изучен с помощью метода электрофореза в крахмальном геле. Установлено, что гордеины контролируются семью сцеплено наследуемыми локусами, обозначенными *Hrd A*, *Hrd B*, *Hrd F*, *Hrd C*, *Hrd D*, *Hrd E* и *Hrd G*, расположенными в коротком плече хромосомы 1Н ячменя. В результате анализа 1248 местных сортов культурного ячменя *Hordeum vulgare* L. из 25 стран мира и 390 образцов дикого предка культурного ячменя *Hordeum spontaneum* C. Koch по трем полиморфным локусам *Hrd A*, *Hrd B*, *Hrd F* в целом обнаружено более 400 различных аллелей, контролирующих различные варианты блоков компонентов. Выявлена структура полиморфизма локусов *Hrd A* и *Hrd B*. Она проявляется в существовании групп блоков компонентов, отличающихся между собой внутри каждой группы по численности, подвижности или интенсивности отдельных компонентов на электрофореграмме. Фенотипически сходные варианты блоков компонентов из 154 и 269 блоков, обнаруженных для гордеина А и В, соответственно, были сгруппированы в семейства. По гордеину А удалось выявить 12, а для гордеина В – 15 семейств блоков компонентов. Численность блоков компонентов внутри отдельных семейств варьирует для А- гордеина от 3 до 60, а для В-гордеина – от 3 до 39 вариантов. Локус *Hrd F* – менее полиморфный. По нему обнаружено 5 вариантов, отличающихся друг от друга по подвижности. Особенности наследования, полиморфизма и организации гордеин-кодирующих локусов позволяют понять механизмы его формирования в центрах разнообразия, изучить связи между центрами и пути распространения культурного ячменя. Показано, что существующий полиморфизм гордеинов у культурного ячменя может формироваться двумя основными путями. Внутри семейств новые варианты блоков компонентов возникают за счет спонтанных мутаций в генах гордеин-кодирующих локусов, а семейства блоков компонентов образуются за счет интрогрессии от *Hordeum spontaneum* C. Koch.

#### C1-27. О ПОЛОЖЕНИИ РОДА *PHLEUM* L. В СИСТЕМЕ ЗЛАКОВ (*POACEAE*)

*Гнутиков А.А.*<sup>\* 1</sup>, *Коцинян А.Р.*<sup>1</sup>, *Родионов А.В.*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: alexandr2911@yandex.ru

Около 20 видов рода *Phleum* L. распространено почти во всех внетропических странах обоих полушарий. Виды рода разделены на 2 обособленных подрода — *Phleum* и *Chilochloa* (P. Beauv.) Peterm., а в пределах одного из них на две секции. 11 видов встречается в России. Ранее род входил в трибу *Phleaeae* Dumort., в настоящее время *Phleum* помещен в подтрибу *Alopecurinae* Dumort. трибы *Poeae* R. Вр. *Phleum* мало исследован молекулярно-филогенетически, а между тем, принятые взгляды на положение рода в системе злаков сомнительны. Материал для исследований был собран во время экспедиций лаб. биосистематики и цитологии 2009–2012 годов, а также взят из гербарных коллекций Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН (LE). Секвенированы ядерные фрагменты *ITS1* – ген *5.8S pPHK* – *ITS2*, фрагменты хлоропластных генов *ndhF*, *matK*, и хлоропластного межгенного спейсера *trnK-rps16* для 10 видов рода. Статистический анализ полученных данных проводился при помощи 3 методов: ML (максимальное правдоподобие), MP (максимальная парсимония) и байесовский анализ. Нами было выявлено, что по всем исследованным фрагментам виды рода *Phleum* отходят отдельно от видов *Alopecurus*. Это позволяет предположить отсутствие прямого общего предка, причем по *ITS* фрагментам и хлоропластному спейсеру *trnK-rps16* род *Phleum* кластеризуется вместе с *Poa*

s.str. Морфологически виды тимофеевки и лисохвоста хорошо различимы. Очевидно, их соцветия – густые колосовидные метелки – результат параллельной эволюции. Наличие существенных молекулярно-филогенетических различий между родами *Phleum* и *Alopecurus* показывает необходимость относить эти рода злаков к разным подтрибам (а возможно и к разным трибам): *Alopecurinae* и *Phleinae*, как в свое время считал выдающийся бельгийский агрозоолог Б. Дюмортье. Работа выполнена в лаборатории биосистематики и цитологии БИН РАН при поддержке РФФИ (12-04-01470; 12-04-01586-а; 12-04-31524, 11-04-00240) и программы «Динамика генофондов».

#### C1-28. ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ КАРЕЛЬСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ *ARABIDOPSIS THALIANA* ПО МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ ЛОКУСАМ

**Федоренко О.М.\***, **Зарецкая М.В.**

Институт биологии Карельского научного центра РАН  
(Петрозаводск), Россия

\*e-mail: fedorenko\_om@mail.ru

Изучение генетического полиморфизма и механизмов поддержания этого вида изменчивости составляют одну из центральных проблем популяционной, эволюционной и экологической генетики. Краевые популяции представляют особый интерес для изучения генетических механизмов адаптации живых организмов к экстремальным условиям на границах ареалов видов. В настоящее время микросателлитные локусы широко применяются в качестве генетических маркеров. Микросателлиты, как тандемно повторяющиеся последовательности, имеют значение в адаптивной эволюции: генные дубликации и последующее ослабление отбора позволяет им эволюционировать различными путями. Проведено сравнительное исследование уровня генетического разнообразия северных природных популяций *Arabidopsis thaliana* (L.), находящихся на границе ареала в бассейне Онежского озера (островные и континентальные) и близлежащих более южных популяций островов Ладожского озера с использованием микросателлитных маркеров (динуклеотидные локусы *ATHCTR1*, *nga111*, *nga162*, *nga168* и *nga172*). Результаты оказались неоднозначными: были выявлены как высоко полиморфные, так и низко полиморфные, и даже одна мономорфная популяция. Мономорфная популяция находится в бассейне Ладожского озера. Полученные данные позволяют предположить постледниковую колонизацию территории Карелии множеством различных предков *A. thaliana*. В среднем популяции показали высокий уровень генетического разнообразия, что не характерно для инбредных видов. Однако популяции бассейна Онежского озера показали небольшое превышение значений показателей уровня генетического разнообразия ( $P_{99\%} = 40\%$ ;  $N_{набл.} = 0,031$ ;  $N_{ож.} = 0,125$ ) по сравнению с популяциями островов Ладожского озера ( $P_{99\%} = 35\%$ ;  $N_{набл.} = 0,021$ ;  $N_{ож.} = 0,113$ ). В связи с этим предполагается, что высокий популяционный полиморфизм *A. thaliana* в северной части его ареала может быть связан с жесткими экологическими условиями произрастания и представляет основу адаптивных процессов. Значительное генетическое разнообразие необходимо для выживания популяций в экстремальных и не стабильных условиях. Низкий уровень полиморфизма и даже мономорфизм некоторых популяций можно объяснить особенностями микроэволюции у инбредных видов. В популяциях таких видов снижение уровня изменчивости может быть связано с уменьшением их численности, вплоть до вымирания в результате таких эффектов как «хитч-хайкинг», фоновый отбор, дрейф генов, которые являются следствием существенной подразделенности и пониженной частоты рекомбинации. Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 13-04-98838 p\_север-а).

#### C1-29. АНАЛИЗ ВАРИАбельНОСТИ ЯДЕРНОГО ТРАНСКРИБИРУЕМОГО СПЕЙСЕРА *ITS1-5.8S-ITS2* У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *ALLIUM* L.

**Филюшин М.А.**

Центр «Биоинженерия» РАН (Москва), Россия

e-mail: michel7753@mail.ru

Род *Allium* (сем. Amaryllidaceae) включает в себя более 800 видов многолетних растений с подземными органами запасаения – луковичками и корневищами. Несмотря на большое хозяйственно-экономическое значение многих видов луков, род *Allium* слабо исследован на молекулярном уровне, в силу чего остается окончательно не ясной его филогения. Ранее последовательность спейсера *ITS1-5.8S-ITS2* была использована для определения филогения рода *Allium*, но в нашей работе был использован ряд новых видов, которые не были ранее исследованы. Для проведения анализа ядерного спейсера *ITS1-5.8S-ITS2* была сформирована коллекция из 68 образцов, представляющих 6 основных подродов *Allium*. Последовательность спейсера была амплифицирована, клонирована и секвенирована. Общая длина участка *ITS1-5.8S-ITS2* варьировала от 733 п.н. у *A. schoenoprasum* до 746 п.н. у *A. odorum*. Длина *ITS1* у рассмотренных нами видов варьировала от 276 до 281 п.н., было выявлено 166 переменных сайтов, из них 134 парсимони-информативных. Длина *ITS2* варьировала от 293 до 302 п.н., было выявлено 161 переменных сайтов, из них 139 парсимони-информативных. Уровень полиморфизма участков *ITS1* и *ITS2* составил 45,6 %. Особый интерес представлял ген 5.8S рРНК, поскольку его последовательность у подавляющего большинства высших растений является высококонсервативной и инвариантной. Длина гена 5.8S рРНК составила 164 нуклеотида, при этом 24 сайта были переменными, что соответствует уровню полиморфизма 14,6 %. При этом для образцов каждого подрода *Allium* были идентифицированы специфические нуклеотидные замены. Таким образом, впервые был выявлен внутривидовой полиморфизм в эволюционно консервативной последовательности 5.8S рРНК у представителей рода *Allium*. Также была определена вероятная вторичная структура этой молекулы РНК у видов рода *Allium*. Идентифицированы три шпильки, характерные для молекулы 5.8S рРНК высших растений. Показано, что в последовательности 5.8S рРНК закрепляются только такие мутации, которые не изменяют ее вторичной структуры. Пик изменчивости 5.8S рРНК приходится на район третьей шпильки. В консервативном мотиве GAATTGCAGAAATCC в шпильке 1b не наблюдается нуклеотидных замен, эта последовательность одинакова у всех образцов *Allium*, что связано с тем, что именно с этой последовательностью связываются рибосомальные белки при сборке большой субъединицы рибосомы. При использовании полученных данных были построены филогенетические деревья и определены положения ранее неисследованных видов рода *Allium*.

#### C1-30. АРОМОРФОЗ И НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ АДАПТИВНОСТЬ

**Сулов В.В.**

ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН  
(Новосибирск), Россия

e-mail: valya@bionet.nsc.ru

Слабое звено сценариев аро/алломорфозов – инициация инвазии в пессимальную эконишу/биотоп. Пессимальность усиливает случайную гибель, совместимую с адаптивной эволюцией лишь при многочисленности, *небольшом* геноме и/или долговременности эволюции (дилемма Холдейна); у эукариот с  $N_e \sim 10\,000$  одновременно эволюционировать могут  $\sim 10\text{--}15$  генов).

Однако, палео/неонтология свидетельствуют: инвазия осуществляется за краткое время, малыми популяциями. Дилемма Холдейна предписывает малой популяции *эндемичную* специализацию – отступление от пессимальных/непредсказуемых областей даже освоенной экониши, закрепленное превентивно-защитными адаптациями. Из-за очевидной полезности превентивно-защитные адаптации трудноэлиминируемы, легко создаются отбором из любого признака. Распространенные превентивно-защитные адаптации – от прекопулятивной изоляции до неофобии и страха – блокируют неслучайную инвазию даже при наличии преадаптаций (и мешают отбору в их пользу). Предложен сценарий парфорсной эволюции. Факторы пессимальности инициируют отбор в популяции и стресс у особей. *Неспецифический* адаптационный синдром – стресс – кратковременно обеспечивает устойчивость организма к нескольким стрессорам (перекрестная резистентность), но долговременно ведет к истощению и/или гибели (дистресс). Малой популяции, ограниченной дилеммой Холдейна, выгоднее изменить (продолжить) фазы перекрестной резистентности, купирование (дистресса) течение стресса селекцией *небольшой* группы его генов, чем тестировать все мутации генома (тем более, стресс временно угашает многие генные сети, автоматически ограничивая пространство возможностей эволюции неспецифически адаптивными генами – стресса и его услуги). Лишь стресс-устойчивые особи могут временно, ненаследуемо, но систематически угашать превентивно-защитные адаптации. Усталость – следствие интерференции в генных сетях стресса/услуги – развываясь задолго до исчерпания ресурсов организма (такое исчерпание – утомление), позволяет оценить опасность дальнейшей пребывания под фактором пессимальности даже без (пре)адаптированных рецепторов. Фактически это адаптация к собственному стрессу (*par force* – через силу), а не к среде, чьи факторы пессимальности – только стресс-релизеры; классическая адаптация к среде – лишь после адаптации к стрессу. Выявлены примеры реализации и границы применимости сценария. Любой признак организма – комплекс адаптаций специфических и неспецифических: индуцибельных (стрессе), рутинных (пример, тиреогеомеостаз), структурных (пример, GC-состав генома). Специфическая адаптация эффективно эволюционирует на фоне неспецифической, лишь когда организм может отцепить данный фактор пессимальности. Иначе – адаптивность поддерживает неспецифическая адаптация. При эвадптивной эволюции неспецифические адаптации в целом должны обгонять специфические, препятствуя эндемизму, ограничивая превентивно-защитные адаптации: формирование зрения требует, минимум, стресс-системы нейтрализации фотохимически активных молекул (иначе ретиналь опасен организму), а рост мозга – совершенного тиреогеомеостаза. Обобщая на три типа неспецифических адаптаций, получим Закон опережающего развития обслуживающей инфраструктуры.

Благодарности: РФФИ:11-04-01748-а; программы: РАН А.П.6.8, Президиума РАН 28; инт/пр. 130, 39; ИШ-5278.2012.4.

### С1-31. АДАПТИВНЫЙ МУТАГЕНЕЗ КАК ЧАСТЬ ОБЩЕГО ОТВЕТА НА СТРЕСС У БАКТЕРИЙ

**Бабынин Э.В.**

Казанский (Приволжский) федеральный университет  
(Казань), Россия  
e-mail: edward.b67@mail.ru

С помощью флукуационного теста определяли характер и частоту мутаций у штаммов SF553 и JF2794 *Salmonella typhimurium*, различающихся по *groS*-статусу. Показано участие гена *groS* в адаптивном мутагенезе. Частота His<sup>+</sup> реверсий, а также мутаций устойчивости к канамицину и рифампицину

у штамма SF553 (*groS*<sup>+</sup>) была выше в 2-8 раз, чем у штамма JF2794 (*groS*<sup>-</sup>). Определение скорости отмирания культур в условиях голодания показало, что штамм SF553 был более устойчив, чем JF2794, однако, разница в жизнеспособности культур была менее 30 %. Полученные результаты свидетельствуют о том, что различия в частоте мутаций этих двух штаммов связаны с тем, что *groS* напрямую участвует в адаптивном мутагенезе. Предполагается, что белок *RpoS* играет регуляторную роль в системе запуска индуцированного стрессом мутагенеза у бактерий.

### \*С1-32. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ НА МОЛЕКУЛЯРНОМ, ОРГАНИЗМЕННОМ И ПОПУЛЯЦИОННОМ УРОВНЯХ ОРГАНИЗАЦИИ У КАВКАЗСКИХ СКАЛЬНЫХ ЯЩЕРИЦ *DAREVSKIA VALENTINI* ПО ДАННЫМ МОЛЕКУЛЯРНОГО МАРКИРОВАНИЯ ГЕНОМОВ

**Гирнык А.Е.**<sup>\*1</sup>, **Осипов Ф.А.**<sup>1,2</sup>, **Омельченко А.В.**<sup>3</sup>, **Верзун А.А.**<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии гена РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>Московский педагогический государственный университет (Москва), Россия;

<sup>3</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН (Москва), Россия

\*e-mail: nasstenochka@mail.ru

Кавказские скальные ящерицы рода *Darevskia* (сем. Lacertidae) включают 17 двуполых и семь однополых (партеногенетических) видов. Популяции двуполого вида *Darevskia valentini* представляют особый интерес, так как являются родительскими (отцовскими) в гибридогенезе пяти партеногенетических видов *Darevskia*. В данной работе проводили генотипирование ящериц *D. valentini* из четырех природных популяций Армении (19 особей) по трем микросателлитным локусам: *Du215* (№ AY574978), *Du281* (№ AY442143) и *Du323* (№ AY574977). Локус *Du215* представлен двумя аллельными вариантами (две гаплогруппы), содержащими простые и сложные микросателлиты. На основе данных сравнительного анализа первичных структур локуса *Du215* у *D. valentini* и ортологичного локуса у партеновида-потомка – *D. unisexualis* можно предположить, что молекулярная эволюция данного участка генома направлена в сторону увеличения числа аллельных вариантов и микросателлитных звеньев в каждом аллеле. Локус *Du281* представлен пятью аллелями. Все они содержат простые несовершенные микросателлиты, относящиеся к одной гаплогруппе. Направление молекулярной эволюции в данном участке генома аналогично локусу *Du215*. Локус *Du323* представлен 6 аллельными вариантами (двумя гаплогруппами). Каждый аллель содержит несовершенный тетрауклеотидный и совершенный динуклеотидный микросателлиты. Они различаются только одной фиксированной нуклеотидной заменой. Локус *Du323* демонстрирует похожее на *Du281* направление молекулярной эволюции. На организменном уровне обнаружено 11 различных генотипов. Они не равномерно распределены в популяциях. Два мажорных генотипа отличаются мутациями только в одном локусе (*Du281*). Они на 92,3% сходны по своей структуре. Оба мажорных генотипа в 80% случаев несут особи высокогорных популяций Тэж и Адис. Высокогорные популяции (Тэж и Адис) являются чрезвычайно похожими между собой как по структурам генотипов их особей, так и по показателям гетерозиготности:  $H$  (Тэж) =  $0,44 \pm 0,007$ ;  $p = 0,000$  и  $H$  (Адис) =  $0,52 \pm 0,005$ ;  $p = 0,000$ . Можно предположить, что центром распространения для *D. valentini* является популяция Адис. Это показано на основании анализа встречаемости генотипов в генофонде. Также, это косвенно подтверждается данными генетического разнообразия. Последующее распространение вида пошло в направлении ареала популяции Лчашен и популяций Тэж и Кутчак (с Юго-Востока на Северо-Запад Армении).



### M1-01. ИЗМЕНЧИВОСТЬ КОНТРОЛЬНОГО РЕГИОНА МТДНК ПЯТНИСТОГО ОЛЕНЯ *CERVUS NIPPON* НА ЮГЕ ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА РОССИИ

*Чайка М.И.*\*, *Шереметьева И.Н.*, *Журавлев Ю.Н.*

ФГБУН Биолого-почвенный институт ДВО РАН

(Владивосток), Россия

\*e-mail: chaika1986@mail.ru

Пятнистый олень – *Cervus nippon* (Temminck, 1838), вид восточной Палеарктики, распространен вдоль побережья Японского моря, Желтым морем и Восточно-Китайским морями, включая острова Японии и Тайвань. Ареал вида имеет мозаичную структуру и представлен рядом изолированных удаленных популяций. Приморская популяция пятнистых оленей занесена в список Красной Книги МСОП-96 (МСОП, список исчезающих видов). В настоящей работе была изучена изменчивость короткого гипервариабельного участка контрольного региона мтДНК (~ 300 п.н.) 40 образцов пятнистых оленей Приморского края. В результате была проанализирована изменчивость дальневосточной популяции пятнистого оленя. В целом для вида было выделено три гаплогруппы. Первая гаплогруппа включает в себя все образцы из южного Китая (Сычуань) и часть образцов из северо-восточного Китая, Приморья и Южной Кореи. Вторая – остальные образцы из северо-восточной части Китая, Приморья, Южной и Северной Кореи, а также некоторые особи с острова Хоккайдо. Третья включает остальные образцы из Японии (Хоккайдо, Хонсю). Было обнаружено, что популяция пятнистых оленей Приморского края имеет наибольшее для этого вида гаплотипическое  $0,894 \pm 0,037$  и нуклеотидное разнообразие  $0.0301 \pm 0.0203$ , хотя в целом оно очень низкое. Высказано предположение, что повышенное генетическое разнообразие приморской популяции пятнистого оленя связано с формированием этой популяции особями из различных плейстоценовых рефугиумов.

### M1-02. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ТРЕМАТОДЫ *SKRJABINOLECITHUM SPASSKII* BELOUS, 1954, ПАРАЗИТА КЕФАЛЕВЫХ РЫБ, НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ

*Атопкин Д.М.*\*, *Никитенко А.Ю.*

ФГБУН Биолого-почвенный институт ДВО РАН

(Владивосток), Россия

\*e-mail: pan2006\_82@mail.ru

Род *Skryjabinolecithum* (Trematoda: Harporidae) был выделен Е.В. Белоус в 1954 году по описанию червей, собранных из пиленгаса *Liza haematocheila* в р. Раздольная в окрестностях г. Владивостока. Этим трематодам было присвоено видовое название *Skryjabinolecithum spasskii*. Характерной особенностью этого вида является наличие шнуровидных желточников, что отличает его от представителей других родов семейства. Виды этого рода трематод паразитируют у морских и эстуарных рыб Восточного Полушария. В данной работе были получены нуклеотидные последовательности гена 28S рДНК и фрагмента ITS1-5.8S-ITS2 для трематод *S. spasskii*, полученных из пиленгаса *Liza haematocheila* из разных водоемов Приморья (р. Киевка, n=14 и р. Карасик, n=4) и из лобана *Mugil cephalus* из Вьетнама (о. Кат Ба, n=7). По этим данным дана оценка генетической изменчивости *S. spasskii*, а также реконструированы филогенетические связи с другими представителями семейства Harporidae. В результате выявлено три основных генотипа *S. spasskii*. Генотип I выявлен у 4 особей из р. Карасик и 10 особей из р. Киевка. Последние были получены из двух экземпляров рыб. Генотип II выявлен у всех особей *S. spasskii* из Вьетнама (образцы получены из двух экземпляров *M. cephalus*). Генетические отличия между генотипами I и II составили 0.5 % и

0.9 % по данным 28S и ITS рДНК, соответственно. Генотип III обнаружен у 4 особей из р. Киевка. Генотип III имел большее сходство с генотипом II (Вьетнам): 0.1 % и 0.3 % по данным 28S и ITS рДНК соответственно, чем с генотипом I (Приморье): 0.4 % и 0.7 % по данным 28S и ITS рДНК, соответственно. Генетическая дифференциация *S. spasskii* на три генотипа обусловлена фиксированными нуклеотидными заменами в исследуемых участках ДНК. Выявленный уровень генетической дифференциации для *S. spasskii* можно рассматривать, как внутривидовой, так как минимальный межвидовой уровень дифференциации, известный для трематод семейства Harporidae по данным секвенирования 28S рДНК, составляет 0.9 %. Тем не менее, дифференциация *S. spasskii* из географически удаленных территорий, возможно, является промежуточным этапом видообразования для *S. spasskii*, которая может быть обусловлена не только географической изоляцией, но и разной специфичностью к окончательному хозяину. Намного больший интерес представляет генотип III, обнаруженный у *S. spasskii* на территории Приморья из пиленгаса и имеющий более высокое генетическое сходство с вьетнамским генотипом. Этот факт, возможно, свидетельствует о прохождении *S. spasskii* процесса смены хозяев (host-switching) в прошлом, характерного для трематод. Однако для формулировки окончательных выводов требуются дополнительные исследования.

### M1-03. ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОДХОД В ИССЛЕДОВАНИИ ГИБРИДНЫХ ЗОН У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

*Павлова С.В.*

ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции

им. А.Н. Северцова РАН (Москва), Россия

e-mail: swpavlova@mail.ru

Естественная гибридизация между различными внутривидовыми формами является удобной моделью для исследования микроэволюционных процессов, которые могут приводить к образованию новых форм (рас) и/или видообразованию. Гибридные зоны образуются в местах контакта внутривидовых форм и являются участками, где встречаются особи с промежуточным для обеих родительских форм генотипом. Очень часто образование внутривидовых форм у млекопитающих связано с наличием различных структурных хромосомных перестроек в кариотипе (Робертсоновские транслокации или полноплечевые реципроктные обмены WART), т. е. с хромосомной изменчивостью. В подобных случаях цитогенетический анализ особей из природных популяций позволяет достаточно легко выявить гибридные кариотипы в местах контакта различных хромосомных форм и рас. Хромосомные гибридные зоны представляют особый интерес в связи с тем, что межрасовые гибриды могут страдать пониженной фертильностью за счет нарушений в ходе мейотических делений (нарушение спаривания и сегрегации гомологичных хромосом, образование несбалансированных гамет и т.п.), что может являться одним из факторов ограничения потока генов между контактирующими популяциями. Такие гибридные зоны с высокой степенью давления отбора против гибридного потомства относят к особому типу – «tension zones». Одним из модельных видов для изучения внутривидового разнообразия на хромосомном уровне является мелкое насекомоядное – обыкновенная бурозубка *Sorex araneus* (Linnaeus, 1758). Ареал этого вида разделен на парапатричные хромосомные расы (более 70), которые, скрещиваясь, производят гибридов различной кариотипической сложности. Число хромосом (2n) в кариотипах рас может варьировать от 20 до 33 за счет транслокационных хромосомных перестроек Робертсоновского типа (центрические слияния) и полноплечевых реципроктных транслокаций (whole-arm reciprocal translo-

сation – WART), при этом основное число хромосомных плеч (FN) у всех рас остается одинаковым и равно 40. Еще одним интересным модельным видом для исследования поставленных вопросов являются обыкновенные серые полевки рода *Microtus*, у которых существуют две кариотипические формы с одинаковым количеством хромосом в кариотипах ( $2n = 46$ ), но при этом с разным индексом FN – 84 у формы «arvalis» и 72 у формы «obscurus». Зона контакта между двумя хромосомными формами проходит по территории Европейской России, однако к настоящему времени обнаружена только одна точка, в которой эти формы скрещиваются, производя гибридов. В докладе обсуждается роль кариотипических различий в поддержании внутривидовой дифференцированности. Работа поддержана грантом РФФИ 12-04-01283-а.

#### M1-04. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ФИЛОГЕОГРАФИЯ ЧЕТЫРЕХ РОДОВ СОНЬ (*GLIRIDAE RODENTIA*)

Григорьева О.О.<sup>\*1</sup>, Балакирев А.Е.<sup>1</sup>, Стахеев В.В.<sup>2</sup>, Орлов В.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт аридных зон Южного научного центра РАН (Ростов-на-Дону), Россия

\*e-mail: grig\_forever@mail.ru

В докладе приведены результаты исследования филогеографических взаимоотношений внутри четырех родов сонь (*Gliridae, Rodentia*) и структуры внутривидовой изменчивости на основе митохондриальных генов *b* и *12S* и ядерного гена *IRBP* для уточнения плейстоцен - голоценовой истории распространения, контактов и таксономического статуса популяций. Результаты анализа митохондриальных и ядерного генов с определенностью указывают на то, что генетическое и таксономическое разнообразие рода *Dryomys* выше, чем это предполагалось ранее, генетическая дивергенция некоторых популяций настолько глубока, что они, вероятно, могут заслуживать статуса самостоятельных видов.

#### M1-05. СОВРЕМЕННОЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ КЕТЫ (*ONCORHYNCHUS KETA* W.) СЕВЕРНОЙ ЧАСТИ АРЕАЛА

Шитова М.В.<sup>\*1</sup>, Хохлов Ю.Н.<sup>2</sup>, Никифоров А.И.<sup>3</sup>, Рубцова Г.А.<sup>1</sup>, Афанасьев К.И.<sup>1</sup>, Прохоровская В.Д.<sup>1</sup>, Ракицкая Т.А.<sup>1</sup>, Малинина Т.В.<sup>1</sup>, Животовский Л.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ФГУП «ЧукотГИНРО» (Анадырь), Россия;

<sup>3</sup>ФГОБУ ВПО «МГИМО МИД РФ» (Москва), Россия

\*e-mail: shitova-m@gambler.ru

В работе было проанализировано 12 выборок (576 образцов) кеты по 10 микросателлитным локусам из шести локальностей (р. Анадырь, р. Белая, р. Великая, р. Канчалан, р. Туманская, р. Хатырка). Результаты анализа показали, что кета рек Чукотки имеет слабую генетическую подразделенность, но комплекс чукотских стад достоверно отличается от комплекса магаданских и камчатских стад, что дает основу для индивидуальной идентификации особей кеты рек Чукотки и возможность отличать ее от кеты других регионов. Генетическое разнообразие чукотской кеты сравнимо с разнообразием других популяций северной части ареала, что говорит о стабильности генетических характеристик кеты этого региона.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ №16.120.11.5285-МК и частично при поддержке

проекта РФФИ №13-04-90767, а так же Программы ОБН РАН «Биологические ресурсы России» и Программы Призидиума РАН «Живая природа: Динамика генофондов».

#### M1-06. ИНФИЦИРОВАННОСТЬ ЭНДОСИМБИОТИЧЕСКОЙ БАКТЕРИЕЙ *WOLBACHIA* НАСЕКОМЫХ ОТРЯДОВ *HYMENOPTERA* И *SIPHONAPTERA* ПОПУЛЯЦИЙ РОССИИ

Юдина М.А.<sup>\*1</sup>, Белова К.А.<sup>2</sup>, Высочина Н.П.<sup>3</sup>, Винарская Н.П.<sup>4</sup>, Данилов Ю.Н.<sup>5</sup>, Бывальцев А.М.<sup>2</sup>, Илинский Ю.Ю.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН

(Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет (Новосибирск), Россия;

<sup>3</sup>ФГУЗ Хабаровская противочумная станция (Хабаровск), Россия;

<sup>4</sup>ФБУН ОмскНИИПОИ Роспотребнадзора (Омск), Россия;

<sup>5</sup>ФГБУН Институт систематики и экологии животных СО РАН (Новосибирск), Россия

\*e-mail: judina@bionet.nsc.ru

*Wolbachia* – это эндосимбиотическая бактерия нематод и членистоногих, которая наследуется по материнской линии вида-хозяина. Она может оказывать паразитическое и/или мутуалистическое действие. Современная оценка распространенности *Wolbachia* среди видов наземных членистоногих составляет 40%. Тем не менее, многие таксоны, например, блохи, стрекозы, коллемболы и отдельные крупные семейства, недостаточно исследованы. Целью нашего исследования было выявление фактов инфицированности и определение генетического разнообразия эндосимбиотической бактерии *Wolbachia* в таких малоисследованных таксонах, как отряд Siphonaptera и семейство Aridae (Hymenoptera) на территории России. Коллекция пчел представлена 41 видом, относящимися к одиночным пчелам, шмелям, пчелам-кукушкам (роды *Nomada*, *Ammobatooides*) и *Apis mellifera* L. Материал собран с территорий Алтайского края, республики Хакасия, Курганской, Новосибирской, Омской, Томской, Кемеровской и Тюменской областей Российской Федерации, а так же Костанайской области республики Казахстан. Коллекция блох представлена 19 видами, которые относятся к двум инфраотрядам: Hystrichopsyllomorpha и Ceratophyllomorpha. Материал собран на территории Хабаровского края и Свердловской области. Проверку качества ДНК проводили с помощью универсальных праймеров (28sF3633/28sR4076) к ядерному гену насекомых 28S rRNA. Присутствие *Wolbachia* в пробах устанавливали с помощью специфических праймеров (W-SpecF/W-SpecR) к гену 16S rRNA. Генетическое разнообразие *Wolbachia* устанавливали современным методом мультилокусного генотипирования (MLST) и в дальнейшем проводили филогенетический анализ. В докладе представлены результаты исследования и обсуждаются собственные и литературные данные о распространенности и генетическом разнообразии *Wolbachia* среди представителей отряда блох и семейства пчел.

#### M1-07. ЭВОЛЮЦИЯ СИСТЕМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ X-ХРОМОСОМЫ С ЯДЕРНОЙ ОБОЛОЧКОЙ ТРОФОЦИТОВ У ТРЕХ БЛИЗКИХ ВИДОВ МАЛЯРИЙНЫХ КОМАРОВ

Артемьев Г.Н.<sup>\*</sup>, Широкова В.В., Стегний В.Н.

Томский государственный университет (Томск), Россия

\*e-mail: g-artemov@mail.ru

Пространственная организация хромосом в клеточном ядре имеет значение для функционирования генома, о чем косвенно

но свидетельствуют данные о неслучайном расположении хромосом и их доменов (Croft et al., 1999; Volpi et al., 2000; Bolzer et al., 2005). Архитектура политенных хромосом в ядрах трофоцитов близких видов малярийных комаров является видоспецифичным признаком и, вероятно, связана с эволюцией этих насекомых (Стегний, 1979, 1993, 2006). С помощью иммуноокрашивания хромосом трофоцитов малярийных комаров *Anopheles atroparvus* Thiel., *An. messeae* Fall. и *An. beklemishevi* Steg. et Kab. антителами к белку ламину В типа были выявлены районы взаимодействия хромосом с ядерной ламинной (L-сайты, Артемов и др., 2012). Количество таких L-сайтов, их распределение на хромосомах и мощность контактов, определяемая по ширине и яркости сигнала, оказались неодинаковыми у изучаемых видов. Наиболее показательна в этом смысле система взаимодействия с ядерной ламинной X-хромосомы (Артемов и др., 2013). X-хромосома *An. atroparvus* имеет три L-сайта, условно обозначенных А, В, С, при этом сайт А расположен ближе к теломере, а С – к центромере (у малярийных комаров в трофоцитах X-хромосома представлена только левым плечом). У *An. messeae* и *An. beklemishevi* таких сайтов четыре, названных подобно *An. atroparvus* А, В, С, D. Задачей настоящего исследования было определить, расположены ли L-сайты в гомеологичных районах хромосом трофоцитов у трех близких видов. Для этого с помощью микродиссекции нами была выделена ДНК из районов X-хромосомы *An. beklemishevi*, где были локализованы L-сайты А и В. Далее из нее было приготовлено два ДНК-зонда и гибридизованы с хромосомами трофоцитов *An. atroparvus* и *An. messeae*. Оказалось, что ДНК-зонд из района с L-сайтом А *An. beklemishevi* гомеологичен районам, в которых расположены L-сайт А X-хромосомы *An. atroparvus* и L-сайт С *An. messeae*. Однако когда мы гибридизовали ДНК зонд из района с L-сайтом В *An. beklemishevi* он локализовался в районах X-хромосомы *An. atroparvus* и *An. messeae*, которые не имели L-сайтов. Из полученных результатов следует, что в эволюции малярийных комаров некоторые районы хромосом сохраняют свойства контакта с ядерной оболочкой, тогда как другие районы могут изменять их, приобретая или утрачивая способность прикрепляться.

#### М1-08. ИДЕНТИФИКАЦИЯ И СРАВНИТЕЛЬНЫЙ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ *PORPHYRIDIDIUM PURPUREUM* ИЗ ЯПОНСКОГО МОРЯ

Ефимова К.В. <sup>\*,1</sup>, Брыков В.А. <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (Владивосток), Россия;

<sup>2</sup>Дальневосточный федеральный университет (Владивосток), Россия

\*e-mail: Xengen88@gmail.com

Информация по генетическому разнообразию существенна для расширения систематических границ и оптимизации стратегий сохранения и использования генетических ресурсов микроводорослей как перспективного источника биотехнологического производства. Одноклеточные красные водоросли *Porphyridium purpureum* (Bory) Ross (*Rhodophyta*) не обладают выраженными видо-специфичными морфологическими характеристиками. В этой связи целью работы явилась идентификация и сравнительный молекулярно-генетический анализ на основе рибосомальных генов (*18S*, *ITS1-5.8S-ITS2*, *D1-D2* регион *28S*) ядерной ДНК микроводорослей рода *Porphyridium* из залива Восток (2008 г.) и Амурского залива (2011 г.) Японского моря, а также культуры из коллекции Биологического научно-исследовательского института (БНИИ ЛГУ) СПбГУ (1985 г) описанной как *Porphyridium cruentum* (= синоним *P. purpureum*). Спектр полученных пос-

ледовательностей по каждому из генов для всех трех культур показал полную генетическую однородность. При сравнении полученных данных с последовательностями Генбанка, было установлено, что исследуемые культуры микроводорослей по *18S рДНК* идентичны виду *P. purpureum*. Уровень межвидовой генетической дифференциации по гену *18S рДНК*, выраженной в долях, составил 0,043 (*P. aeruginum*/ *P. sordidum*), 0,028-0,037 (*P. sordidum* / *P. purpureum*), 0,057-0,065 (*P. aeruginum*/ *P. purpureum*). Величина внутривидовой р-дистанции *P. purpureum* составила 0-0,008, что соответствует диапазону внутривидовой вариативности. Последовательность *ITS*-региона трех исследуемых культур сравнивалась с единственной последовательностью из генетической базы данных *P. purpureum*. Доля нуклеотидных различий внутри вида составила 0,014. Минимальный межродовой уровень различий у родофитовых водорослей *Porphyridium* составил 0,322 к *Ahnfeltia*. В рамках проведенного исследования впервые были получены последовательности к участку *D1-D2 28S рДНК* для микроводоросли *P. purpureum*, в целом для рода. Минимальная межвидовая генетическая дифференциация составила 0,328 по отношению к многоклеточной красной водоросли *Rhodochaete pulchella*. Тем не менее, полученные результаты свидетельствуют о высоком уровне консервативности генов рДНК трех анализируемых культур и позволили установить их принадлежность к виду *P. purpureum*.

#### М1-09. ПОЛИМОРФИЗМ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА 3'- НЕКОДИРУЮЩЕГО РЕГИОНА ГЕНА ДОФАМИНОВОГО ТРАНСПОРТЕРА (DAT1) У МУЖЧИН АФРИКАНСКИХ ЭТНОПОПУЛЯЦИЙ ХАДЗА И ДАТОГА

Суходольская Е.М. <sup>\*,1</sup>, Васильев В.А. <sup>1</sup>, Шибалев Д.В. <sup>1</sup>, Щербакова О.И. <sup>1</sup>, Куликов А.М. <sup>2</sup>, Лазебный О.Е. <sup>2</sup>, Дронова Д.А. <sup>3</sup>, Бутовская М.Л. <sup>3</sup>, Рысков А.П. <sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии гена РАН (Москва) Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (Москва), Россия;

<sup>3</sup>ФГБУН Институт этнологии и антропологии им. Н.Н. Миклухо-Маклая РАН (Москва), Россия

\*e-mail: j.suchodolskaya@gmail.com

Дофаминергическая система мозга играет важную роль в формировании различных поведенческих реакций, так как дофамин действует на процессы мозга, контролирующие движение, эмоции, способность испытывать удовольствие и боль. Переносчик дофамина DAT1 (SLC6A3) участвует в контроле дофаминергической нейротрансмиссии. В данной работе проведено изучение VNTR-полиморфизма и молекулярной структуры 3'- некодирующего региона гена DAT1 у мужчин африканских популяций хадза, эгалитарных охотников-собирателей (n=196), и датога, военизированных полуседлых скотоводов (n=182). Нами впервые была установлена структура аллельных вариантов DAT1, содержащих 3, 8 и 12 повторов. Кроме того обнаружено, что аллельный вариант с 11 повторами у датога значительно отличался по расположению и типу повторов от описанного ранее у представителей других популяций. Мы предполагаем, что вариации в числе и типах повторов в 3'- некодирующем регионе аллельных вариантов могут влиять на функционирование гена дофаминавого транспортера. Также нами были выявлены различия в распределении частот аллелей и генотипов между популяциями хадза и датога. У хадза чаще встречается аллель DAT1 с 9 повторами в 3'-некодирующем регионе, так же как и гомозиготный генотип DAT1 9/9. У датога чаще встречается аллель DAT1 с 10 повторами, так же как и гомозиготный генотип DAT1 10/10. Проведенный регрессионный анализ показал корреляцию между аллельными вариантами локуса DAT1 и различными формами агрессивного поведения у датога.



### M1-10. СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГЕНОФОНДА АРМЯН И СОСЕДНИХ НАРОДОВ В КОНТЕКСТЕ ПРОБЛЕМЫ «ПРАРОДИНЫ ИНДОЕВРОПЕЙЦЕВ» (ПО ДАННЫМ О ПОЛИМОРФИЗМЕ Y-ХРОМОСОМЫ)

*Чухряева М.И.* <sup>\*1</sup>, *Теучеж И.Э.* <sup>1</sup>, *Дибирова Х.Д.* <sup>1</sup>,  
*Епископоян Л.М.* <sup>2</sup>, *Почешхова Э.А.* <sup>3</sup>, *Балановский О.П.* <sup>4</sup>

<sup>1</sup>Медико-генетический научный центр РАМН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>Институт молекулярной биологии НАН РА (Ереван), Армения;

<sup>3</sup>ГБОУ ВПО Кубанский государственный медицинский университет (Краснодар), Россия;

<sup>4</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия

\*e-mail: m.chukhryaeva@yandex.ru

Армяне являются одним из немногих народов Кавказа, принадлежащих к индоевропейской языковой семье. Но присутствуют ли в их генофонде какие-либо специфические, характерные для индоевропейцев черты, которые отсутствуют у соседних народов? Ответ на этот вопрос стал целью настоящей работы. Нами изучены по широкой панели маркеров Y-хромосомы (40 SNP и 17 STR-маркеров) четыре группы армян (N=300): амшены, армяне Адыгеи, Краснодарского края и донские армяне. Анализ частот гаплогрупп показал, что армяне сохранили свой протогенофонд и генетически отличны от своих современных географических соседей. При этом они схожи с выборками армян Армении: и у тех, и других широко распространены гаплогруппы J-M67 и R-L23. Однако в отдельных группах армян мажорными являются другие варианты Y-хромосомы: G-M285 и R-M458. Филогенетический анализ R-M458, встреченной только у донских армян, указывает на позднейшее влияние русских или украинцев на эту группу. G-M285 составляет почти 40 % в популяции амшен, что объясняется особенностями их этногенеза, создавшего условия для интенсивного действия дрейфа генов. Следовательно, ни R-M458, ни G-M285 не могут рассматриваться как специфические «индоевропейские» маркеры. Картографический анализ распространения J-M67 и R-L23 показал переднеазиатское происхождение этих гаплогрупп. Они характерны также и для географически близких с армянами популяций Анатолии. Таким образом, рассматривать присутствие этих гаплогрупп у армян как следы индоевропейской экспансии можно только при принятии анатолийской гипотезы происхождения индоевропейцев. Для выяснения положения армян среди окружающих народов нами были построены графики многомерного шкалирования: все четыре группы армян обособлены от остальных популяций Кавказа, что обусловлено преобладанием в их генофонде переднеазиатских гаплогрупп. При этом донские армяне, в отличие от других групп армян, входят в общий кластер с индоевропейскими популяциями курдов и персов (прицельный анализ показал, что подобная близость обусловлена присутствием в генофонде донских армян гаплогрупп M78(xV13) и V13).

### M1-11. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЧАСТОТ АЛЛЕЛЕЙ И ГЕНОТИПОВ ПО ПОЛИМОРФНОМУ ЛОКУСУ 5-TTLPR ГЕНА SLC6A4 В ПОПУЛЯЦИИ КОРЕННЫХ ЖИТЕЛЕЙ БЕЛАРУСИ

*Кондратенко А.С.* <sup>\*</sup>, *Голоенко И.М.*, *Сивицкая Л.Н.*,  
*Кушнеревич Е.И.*, *Даниленко Н.Г.*, *Давыденко О.Г.*  
Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (Минск),  
Беларусь

\*e-mail: cytoplasmic@mail.ru

Ген *SLC6A4* детерминирует синтез белка-переносчика серотонина, осуществляющий обратный захват нейромодулятора серотонина, регулируя его уровень в синаптической щели. Серо-

тонинергическая нейромедиаторная система является ключевым компонентом в поддержании физиологического контроля за эмоциональным поведением и психическим состоянием человека. Нарушения в 5-HT системе связаны со многими психическими расстройствами. В связи с этим проводились популяционные исследования коренных жителей Беларуси по полиморфному локусу 5-HTTLPR гена *SLC6A4*. Задачей исследования являлся анализ распределения частот аллелей и генотипов в популяции коренных жителей Беларуси. В исследовании приняло участие 390 коренных жителей из 17 городов в 6 регионах Беларуси. Наиболее часто изучаемой вариацией гена *SLC6A4* (17q11.1–17q12), является полиморфный локус 5-HTTLPR, относящийся к VNTR полиморфизмам. Данный полиморфизм представлен двумя аллелями: длинным 528 п.о. (L) и коротким 484 п.о. (S), транскрипционная активность последнего по литературным данным снижена в три раза. Аллелями и генотипами риска развития различных психических расстройств выступают как S, так и L. Анализ белорусской популяции по 5-HTTLPR локусу показал, что частоты распределения генотипов (12 % SS, 46 % SL, 42 % LL) и встречаемость аллелей (34 % – S аллель, 66 % – L аллель) схожи с результатами других исследований на популяциях европеоидной расы. Наибольшее сходство выявлено с польской (16,4 % SS, 46,0 % SL, 37,6 % LL), а наименьшее с испанской (24,1 % SS, 45,5 % SL, 30,4 % LL) популяциями. Анализ распределения частот 5-HTTLPR генотипов по отдельным регионам Беларуси не выявил достоверных различий между ними. Аллельные варианты 5-HTTLPR полиморфизма влияют на экспрессию гена, увеличивая/уменьшая плотность белка-переносчика в пресинаптической мембране нейрона и уровень концентрации свободного серотонина в синаптической щели. Данные многочисленных исследований указывают на связь измененной экспрессии гена *SLC6A4* с шизофренией, алкоголизмом, тревожными состояниями, биполярным расстройством, депрессией, синдромом дефицита внимания, гиперактивностью и аутизмом. Результаты проведенных нами исследований используются для изучения механизмов формирования и развития различных психических расстройств в популяции белорусов.

### M1-12. «РОД» КАК КВАЗИГЕНЕТИЧЕСКИЙ МАРКЕР Y-ХРОМОСОМЫ В ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ИСТОРИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

*Жабалин М.* <sup>\*1</sup>, *Балановская Е.В.* <sup>2</sup>, *Сабитов Ж.* <sup>3</sup>,  
*Богунов Ю.* <sup>4</sup>, *Фролова С.* <sup>2</sup>, *Дибирова Х.Д.* <sup>2</sup>,  
*Захаров-Гезехус И.А.* <sup>5</sup>, *Балановский О.П.* <sup>5</sup>

<sup>1</sup>Центр наук о жизни, Назарбаев Университет (Астана),  
Казахстан;

<sup>2</sup>ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН  
(Москва), Россия;

<sup>3</sup>Евразийский национальный университет им. Л.И. Гумилева  
(Астана), Казахстан;

<sup>4</sup>Амурский гуманитарно-педагогический госуниверситет  
(Комсомольск-на-Амуре), Россия;

<sup>5</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва),  
Россия

\*e-mail: mzhabin@gmail.com

В популяционной генетике фамилии традиционно используются как «квазигенетический» маркер для оценки сходства популяции и расчета случайного инбридинга. В последние годы появились исследования, прямо связывающие «квазигенетический» маркер (фамилию, род и т. п.) с генетическими маркерами Y-хромосомы, поскольку оба типа маркеров наследуются по отцовской линии. Так, в последних пяти крупных исследованиях, посвященных ирландским (McEvoy et al., 2006), английским (King et al., 2009), русским (Балановская и др., 2012) фамилиям,

а так же фамилиям тюркских (Схалыхо, 2013) и абхазо-адыгских (Теучеж, 2013) народа Кавказа было показано, что рассчитанные средние оценки генетического возраста фамилий не противоречат историческим данным об их возникновении. Особенностью народов с кочевым образом жизни была патронимическая традиция: название «рода» всегда наследовалось по отцовской линии. Сегодня многие народы все еще сохранили данные о своей родоплеменной структуре в виде генеалогических летописей и устной памяти о «семи именах» предков по отцовской линии. «Родоплеменная» структура отражала для них сложную систему этносоциальной организации общества и его традицию единого генеалогического древа, как единого целого общества. Так, у казахов эта родоплеменная структура была представлена в «Шежире», у башкир «Шежере», у киргизов «Санжыра», у туркменов «Шеджере», у татар «Шаджара», у монголов и других народов в народных родословных. Исследование полиморфизма Y-хромосомы с учетом родовой структуры дает информацию об истории и тонкой структуре генофонда, позволяет выявлять генетические границы между относительно однородными генофондами, и верифицировать гипотезы о происхождении отдельных родов. В нашем исследовании генофонда казахского народа (N=1407) в контексте родоплеменной структуры у представителей 9 из 14 крупных родов было выявлено накопление различных, характерных для каждого рода гаплогрупп Y-хромосомы, подтверждая монофилетичность большинства казахских родов и сложный этногенез казахского народа.

Работа поддержана грантами РФФИ 13-06-00670, 11-06-00333а и Подпрограммой Президиума РАН «Динамика генофондов».

#### M1-13. ГЕН-СРЕДОВЫЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ И УРОВЕНЬ ПОТРЕБЛЕНИЯ АЛКОГОЛЯ: ИССЛЕДОВАНИЕ ЭТНИЧЕСКИХ ГРУПП

**Ким А.А.\*<sup>1,2</sup>, Санина Е.Д.<sup>1</sup>, Боринская С.А.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>Московский государственный физико-технический институт (Долгопрудный), Москва, Россия  
e-mail: annaalexa@yandex.ru

У представителей трех этнических групп (русских, удмуртов и татар, всего 1023 индивида) исследована ассоциация аллеля *ADH1B\*48His* гена алкогольдегидрогеназы с количеством и характером потребления алкоголя и биохимическими маркерами. Показано, что носители аллеля *ADH1B\*48His* потребляют в среднем меньшее количество алкоголя и реже оказываются приверженцы к опасным стилям потребления алкоголя (запоям и потреблению суррогатов). Показано, что у носителей аллеля *ADH1B\*48His* повышен уровень биохимических маркеров злоупотребления алкоголем углевод-дефицитного трансферрина (CDT) и гамма-глутамилт трансферазы (GGT) по сравнению с носителями генотипа *Arg/Arg*. Выявлена зависимая от возраста ассоциация уровня BNP с количеством потребляемого алкоголя и показано, что характер возрастных изменений различен у представителей разных этнических групп. У русских до 50 лет различия уровня BNP между группами с повышенным уровнем CDT (группа злоупотребляющих алкоголем) и нормальным незначима, и наблюдаются выраженные различия появляются после 50 лет, что свидетельствует о нарушении функций миокарда. Между тем у удмуртов и татар различия возникают уже в возрастной группе 40–50 лет. Представлены данные анализа различий уровня исследованных маркеров и их возрастной динамики в зависимости от генотипа по полиморфизму *ADH1B\*Arg/48His* и уровня образования индивидов. Проведено сравнение роли генетических и социальных факторов, влияющих на характер потребления алкоголя и ассоциированные

с ним биохимические маркеры.

Работа поддержана грантом РФФИ, проект № 12-06-00307.

#### M1-14. ГОРИЗОНТАЛЬНЫЙ ПЕРЕНОС ГЕНОВ НА ПРИМЕРЕ *LINARIA LOESELII* SCHWEIGG.

**Павлова О.А.\*<sup>1</sup>, Матвеева Т.В.**

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: olgunja\_@mail.ru

Горизонтальный перенос генов (ГПГ) – передача генетического материала между филогенетически отдаленными организмами. В литературе описаны примеры переноса и закрепления участка плазмиды агробактерий (Т-ДНК, от англ. «transferred DNA») в геноме высших растений, в частности у некоторых видов *Nicotiana* и у *Linaria vulgaris* L. (White et al., 1983; Intrieri, Buiatti, 2001; Matveeva et al., 2012). В ходе эволюции данные виды подверглись агроинфекции, закрепление Т-ДНК в геноме стало возможным в результате регенерации целого растения из пораженной ткани. В ходе эволюции Т-ДНК-подобные последовательности не были элиминированы из растительных геномов, а некоторые гены в пределах Т-ДНК поддерживались отбором, поскольку сохранились интактными. Данные факты могут указывать на некую адаптивную роль закрепленной Т-ДНК для растения. Для понимания этой роли и оценки значения агробактериальных мотивов необходим поиск новых примеров ГПГ от агробактерий к растениям и детальное изучение Т-ДНК – подобных последовательностей, выявленных у растений. Нами показано, что геном *Linaria loeselii* Schweigg. содержит последовательности, гомологичные Т-ДНК *Agrobacterium rhizogenes*, в частности генам *rolB*, *rolC*, *ORF13* и *ORF14*, а также гену микимопин-синтазы (*mis*). Часть выявленных последовательностей накопила множественные мутации и делеции, а часть практически не подверглась изменениям. Возможно, именно сохранившиеся последовательности и могли сыграть решающую роль при закреплении Т-ДНК в геноме растения. Детальное изучение обнаруженных последовательностей и выявление закономерностей закрепления Т-ДНК у разных видов растений поможет прояснить аспекты растительно-микробного взаимодействия, но и выявить происхождение отдельных генов, организмов или видов, а также понять общие закономерности совместного эволюционирования организмов. С практической точки зрения факт обнаружение новых примеров ГПГ (т.е. «природно-трансгенных» организмов) может быть востребован в качестве контраргумента при критике генно-модифицированных культур, используемых в современном сельском хозяйстве, медицине, ветеринарии. Работа выполнена за счет средств тематического плана НИР СПбГУ № 0.37.87.2011 «Метагеномный анализ микробиома как многофункционального высокоинтегрированного биосферного «интерфейса», а также за счет средств междисциплинарного пректа СПбГУ № 0.37.526.2013 «Эколого-географическое исследование распространения агробактерий и растений, имеющих в геноме последовательности ДНК агробактериального происхождения» с использованием оборудования Ресурсного центра СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий».

#### M1-15. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ФИЛОГЕНИЯ И СИСТЕМАТИКА БРЮХОНОГИХ МОЛЛЮСКОВ РОДА *NUCELLA* RIDING, 1798 (MURICIDAE)

**Чичвархина О.В.\*<sup>1</sup>, Чичвархин А.Ю.**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии моря им. Жирмунского ДВО РАН (Владивосток), Россия

\*e-mail: olga.chichvarkhina@gmail.com



Используя в качестве молекулярных маркеров последовательности генов *COI*, *28s-pPHK*, *16s-pPHK* и *гистона H3*, нами изучены филогенетические взаимоотношения и аспекты систематики рода *Nucella*, распространенного в морях северной Атлантики и Пацифики. Нуцеллы являются важным элементом биоценозов литорали северных морей, будучи одним из наиболее крупных хищников, воздействующих на популяции моллюсков и усконогих ракообразных. Сами они являются кормом для морских птиц, рыб и десятиногих раков. Систематика рода долгое время оставалась противоречивой, главным образом по причине сложности морфологической идентификации видов, особенно тех, которые обитают в приазиатской части Пацифики. В настоящем исследовании, мы использовали все виды этого рода, включая недавно описанный *N. sirenkoi* из Японского моря и формы из группы *N. lima*, таксономия которых пока не ясна. По причине труднодоступности материала, мы не смогли изучить малоизвестные формы этого рода, обитающие на Сахалине, Курильских и Командорских островах. Согласно полученной топологии мы сделали следующие выводы: 1) *Nucella heyseana* является монофилетическим таксоном с низким уровнем внутривидовой дивергенции. Подвид *N. h. alabaster* генетически не

отличается от типичных форм. Он является, вероятно, экологической формой *N. heyseana*, необычная структура раковины которого связана с кормовым объектом моллюска или иными средовыми факторами. 2) *Nucella sirenkoi* не конспецифична ни *N. heyseana*, ни *N. lamellosa*, как это предполагалось ранее. Ввиду того, что *N. elongata* является синонимом *N. heyseana*, описание *N. sirenkoi* выглядит еще более обособанным. 3) *Nucella lima* представлена комплексом из четырех (полу)видов: *N. (l.) lima* (Северная Америка), *N. (l.) cf. behringiana*, *N. (l.) freycinetii* и *N. (l.) cf. decemcostata* (азиатское побережье). 4) Базальное положение занимают формы, обладающие выраженной осевой скульптурой раковины – *N. lamellosa* и *N. sirenkoi*. 5) Наиболее молодой кладой является надвид *N. lima* радиация которого, согласно низкому уровню генетической дифференциации видов этой группы, могла начаться не ранее 20 тысяч лет назад. 6) Единственный атлантический вид *N. lapillus* разошелся с кладой *N. lima* и проник через Арктику в Атлантику до последнего оледенения примерно 30-40 тысяч лет назад, что подтверждается и палеонтологическими находками. 7) Маркеры *COI* и *гистон H3* найдены эффективными ДНК-штрихкодами для идентификации всех видов изученного рода.

# МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

## ОТ ХРОМОСОМНОЙ ТЕОРИИ К МАТРИЧНОМУ ПРИНЦИПУ

**Инге-Вечтомов С.Г.**<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Кафедра генетики и биотехнологии Санкт-Петербургского государственного университета (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Санкт-Петербург), Россия  
e-mail: ingevechtomov@gmail.com

Базовые представления в генетике как науке о наследственности и изменчивости претерпели эволюцию от ядерной гипотезы через Менделизм и хромосомную теорию, представления о ДНК как универсальном генетическом материале к Центральной Догме молекулярной биологии, оформившей общепринятое ныне представления о матричном принципе. Последний необходимо дополнить концепцией «белковой наследственности». Интеграция представлений об изменчивости с матричным принципом восходит к идее конвариантной редупликации Н.В.Тимофеева-Ресовского и представлениям о первичных повреждениях М.Е.Лобашева, впервые сопоставившего мутационный процесс и репарацию генетического материала. Матричные процессы можно разделить на две группы: I – копирование линейных матриц, или матриц последовательности нуклеиновых кислот (репликация, транскрипция, трансляция) и II – копирование пространственных (конформационных) матриц белковой природы. Матричные процессы I рода обладают универсальными характеристиками, в частности: неоднозначность воспроизведения и возможность коррекции (репарации) при возникновении первичных, или потенциальных повреждений. Такой подход позволяет рассматривать с единой позиции явления, традиционно подразделяемые на наследственную, онтогенетическую и модификационную изменчивость. В сообщении представлены данные о возможности распространения основных свойств матричных процессов I рода на матричные процессы II рода, а также о взаимодействии матриц I и II рода.

## РЕПАРАЦИЯ ДНК КАК МЕХАНИЗМ ОБЕСПЕЧЕНИЯ СТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМА

**Лаврик О.И.**

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск), Россия*  
e-mail: lavrik@niboch.nsc.ru

Лекция будет посвящена исследованиям ансамблей репарации ДНК, обеспечивающих стабильность генома человека. Ансамбли белков, осуществляющие репарацию ДНК, играют ключевую роль в сохранении генетической информации, поскольку различные факторы окружающей среды, а также агенты эндогенного происхождения постоянно повреждают структуру ДНК. К таким воздействиям относятся ионизирующее и ультрафиолетовое излучение, эндогенные

окислители, а также продукты, загрязняющие окружающую среду. В процессе эволюции возникло несколько специализированных систем, которые способны исправить любые повреждения в структуре ДНК. Неисправности в работе систем репарации ДНК вызывают тяжелые заболевания человека, в том числе являются причиной возникновения рака, нейродегенеративных заболеваний и старения. Исследование механизмов репарации необходимо для поиска наиболее оптимальных путей лечения нейродегенеративных и онкозаболеваний человека. В лекции будут представлены результаты по созданию систем репарации, реконструированных из индивидуальных белков, а также по разработке новых протеомных методов для идентификации в экстрактах клеток и ядер новых белковых факторов и ферментов, участвующих в ключевых процессах репарации ДНК. Для этой цели в качестве подхода был применен метод аффинной модификации в сочетании со спектроскопией MALDI-MS. Идентификация клеточных белков, специфически взаимодействующих с определенным типом повреждений, основана на формировании ими ковалентных аддуктов с апуриновыми/апиримидиновыми (AP) сайтами в ДНК и фотоактивными ДНК, имитирующими интермедиаты процессов репарации. С помощью разработанного подхода был обнаружен ряд белков (HMGB1, Ku70/80, PARP1, YB-1), взаимодействующих с ДНК, содержащими AP-сайты (AP-ДНК). Это взаимодействие обеспечивает временную защиту AP-сайтов, как наиболее распространенных повреждений ДНК, а также регуляцию их последующей репарации. Установлены новые механизмы репарации AP-сайтов, в том числе AP-сайтов, включенных в кластеры наряду другими повреждениями ДНК, а также механизмы регуляции этих процессов. Обнаруженные белковые факторы являются маркерами чувствительности клеток к ионизирующему излучению, в связи с чем разработанные подходы позволяют оценивать эффективность систем репарации ДНК в клетках, а, следовательно, их устойчивость к действию ионизирующего облучения и химиотерапевтических препаратов, подавляющих работу систем репарации ДНК. Будут представлены результаты по разработке ингибиторов ферментов репарации ДНК как потенциальных лекарств. Работа поддержана грантами РФФИ и Программой РАН «Молекулярная и клеточная биология»

## ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ЭУКАРИОТИЧЕСКОГО ГЕНОМА В КОНТЕКСТЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ КОМПАРТМЕНТАЛИЗАЦИИ КЛЕТОЧНОГО ЯДРА

**Разин С.В.**

*Институт биологии гена РАН;  
Московский государственный университет  
им. М.В. Ломоносова (Москва), Россия*  
e-mail: sergey.v.razin@usa.net

В лекции рассматриваются современные представления о пространственной организации эукариотических хромосом, ба-

зирующиеся на результатах исследований, проведенных с использованием метода фиксации конформации хромосомы (3С) и производных полногеномных методов (4С, Hi-C). Особое внимание уделяется проблеме позиционирования удаленных регуляторных элементов генома и промоторов контролируемых этими регуляторными элементами генов. Анализируются результаты, продемонстрировавшие несостоятельность модели активного хроматинового блока, и обосновывается модель активного хроматинового компартмента. Далее обсуждаются вопросы, связанные с функциональной компартиментализацией клеточного ядра. Дается критический анализ результатов, продемонстрировавших пространственную сегрегацию активного и неактивного компартментов генома. Рассматривается возможная роль транскрипционных фабрик в поддержании пространственной организации интерфазных хромосом. Наконец, обсуждаются динамический характер функциональных компартментов клеточного ядра и возможные механизмы объединения различных макромолекулярных комплексов в компартменты.

### ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ: ИТОГИ И ПРОБЛЕМЫ

**Абилев С.К.**

*ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия.*

e-mail: abilev@vigg.ru

За 45-летнюю историю генетической токсикологии как научного направления были достигнуты немалые успехи в создании тест-систем для изучения генотоксичности широко распространенных в окружающей среде химических соединений и гармонизации стратегий тестирования, принятых в различных странах. Ряд полученных результатов внесли существенный вклад в понимание закономерностей химического мутагенеза. В их число можно отнести, например, зависимость мутагенной активности химического соединения от его биотрансформации в организме, роль объемных аддуктов соединения или его метаболита в индуцированном мутагенезе, механизмы реализации химически индуцированных первичных повреждений ДНК в мутации. Много сделано в плане мониторинга за появлением и накоплением генотоксичных соединений в компонентах окружающей среды: в воздухе промышленных зон и городов, питьевой воде, в природной водной среде, в почве и пищевых продуктах и т.д. Вместе с тем не в полной мере реализовалась такая главная задача генетической токсикологии, как количественная оценка генетического риска для человека, связанных с воздействием мутагенов окружающей среды. Это связано с тем, что, во-первых, не во всех странах проводилось изучение мутагенной активности в половых клетках животных, хотя предусматривалось. Во-вторых, исследования на генотоксичность в системе оценки безопасности до сих пор рассматриваются только как оценка потенциальной канцерогенной активности изучаемого химического соединения. В Российской Федерации принята система оценки мутагенной активности новых лекарственных средств на этапе их предклинических исследований. В этой системе предусмотрено изучение способности лекарственного препарата индуцировать мутации в зародышевых клетках мышей перед 3-й фазой клинических испытаний. Одной из главных проблем современной генетической токсикологии является невозможность обеспечения сложившейся системой тестирования на генотоксичность растущего числа новых химических соединений, попадающих в окружающую среду. В этой связи в ряде стран принимаются меры, направленные на реализацию автоматизированного тестирования, которая основана на использовании высокопроизводительных тестов *in vitro*, интегрированных с компьютерными системами анализа

данных и экстраполяции их на системы *in vivo*. Оценить валидность данных, полученных с помощью таких систем, пока не представляется возможным. И в этой системе нет места изучению генотоксичности на зародышевых клетках животных с целью оценки безопасности вещества для потомства.

### НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ГЕНОМА И ТРАНСГЕНЕРАЦИОННЫЕ ЭФФЕКТЫ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

**Дуброва Ю.Е.**

*Department of Genetics, University of Leicester, Leicester LE1 7RH, UK (Лестер), Великобритания*

e-mail: yed2@le.ac.uk

Традиционно, анализ генетических последствий воздействия радиации и химических мутагенов связан с изучением индукции мутаций в половых клетках родителей. Однако многочисленные данные, полученные на протяжении последних лет, показывают, что повышенная частота мутирования наблюдается не только в половых клетках родителей, но и среди их потомков. Наличие подобных трансгенерационных эффектов показывает, что сложившиеся в радиационной генетике и мутагенезе представления могут существенно недооценивать неблагоприятные последствия воздействия мутагенов на организмы. В докладе будут представлены экспериментальные данные, свидетельствующие о повышенной частоте возникновения мутаций в половых и соматических клетках среди потомков родителей, подвергшихся воздействию радиации или химических мутагенов. Кроме того, будут рассмотрены возможные эпигенетические механизмы трансгенерационной нестабильности генома у потомков и их возможный вклад в компоненту генетических факторов риска воздействия мутагенов для человека.

### ОНКОГЕННЫЕ И ОНКОСУПРЕССОРНЫЕ МИКРОРНК И ИХ КЛАСТЕРЫ ПРИ РАЗВИТИИ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

**Матишов Д.Г.<sup>1</sup>, Шин Е.Ф.<sup>1</sup>, Бойко Н.В.<sup>1</sup>, Махоткин М.А.<sup>1</sup>, Тимошкина Н.Н.<sup>1</sup>, Кит О.И.<sup>2</sup>, Максимов А.Ю.<sup>2</sup>, Тарасов В.А.<sup>1</sup>**  
*<sup>1</sup>ФГБУН Институт аридных зон ЮНЦ РАН (Ростов-на-Дону), Россия;*

*<sup>2</sup>ФГБУ Ростовский научно-исследовательский онкологический институт (Ростов-на-Дону), Россия*

\*e-mail: dmatishov@mail.ru

МикроРНК представляют собой короткие (22-24 н.) молекулы, которые участвуют в регуляции не менее 60 % генов человека, включая гены-супрессоры опухолей и онкогены. С помощью параллельного секвенирования на платформе MiSeq, проведенного на образцах опухолевых и нормальных тканей толстой кишки, были идентифицированы микроРНК и их кластеры, aberrантно экспрессирующиеся в 80-100% случаев колоректального рака. При этом 15 микроРНК показали увеличение экспрессии по сравнению с контролем, а 25 микроРНК – снижение. Среди идентифицированных aberrантно экспрессирующихся микроРНК нами впервые были обнаружены четыре микроРНК (miR-100-5p, miR-30d-5p, miR-204-5p, miR-29c-5p), для которых ранее не была установлена связь с развитием колоректального рака. Все эти четыре микроРНК показали сниженную экспрессию в опухолевых клетках, что позволяет сделать вывод об их онкосупрессорной функции. Дополнительные аргументы в пользу этого заключения получены при анализе функций генов-мишеней этих микроРНК, таких как ген *MTOR*, регулирующий пролиферацию, рост клеток и участвующий в сигнальной трансдукции, входя в путь PI3K/АКТ/mTOR; ген *MTDH*, для которого показано участие в процессе синтеза ДНК,

в подавлении трансляции белка в ходе процессов РНК-интерференции, а также ангиогенезе; ген *EZR*, белковый продукт которого активирует известный онкоген *RAS*. Кроме того, согласно литературе miR-30d в разных типах опухолей может выступать либо в качестве онкогенной, либо в качестве онкосупрессорной микроРНК, в этой связи полученные нами данные впервые показывают, что данная микроРНК в клетках колоректального рака является онкосупрессорной. Нами идентифицировано 15 кластеров тесно сцепленных генов микроРНК, входящих в кластер. При этом в 5 случаях показано, что микроРНК, представленные в кластере, экспрессируются координированно – в 2 случаях наблюдается увеличение, а в 3 оставшихся уменьшение экспрессии микроРНК. К последнему случаю относятся кластеры микроРНК miR-30e~30c, miR-143~145, miR-497~195. Известно, что экспрессия микроРНК, входящих в эти кластеры, координированно уменьшается в злокачественных клетках целого ряда опухолей: раке молочной железы, печени, колоректальном раке. Одновременно aberrантная экспрессия этих микроРНК влияет на протекание митотического цикла и апоптоза. В случае кластеров, для которых характерно координированное увеличение экспрессии микроРНК показано, что их гены мишени также включены в контроль апоптоза, а также сигнальных путей PI3K/AKT/mTOR/TGF $\beta$ , для которых установлено участие в злокачественном перерождении клеток на разных стадиях развития опухоли.

#### ИЗМЕНЕНИЕ СВОЙСТВ ПРИОНА [PSI<sup>+</sup>] С ПОМОЩЬЮ САЙТ-СПЕЦИФИЧЕСКОГО МУТАГЕНЕЗА

*Бондарев С.А.\**, *Трубицина Н.П.*, *Журавлева Г.А.*

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

\*e-mail: stanislavspbgu@gmail.com

Прионы были впервые описаны как возбудители нейродегенеративных заболеваний, которые также относят к инфекционным амилоидозам. Прионы низших эукариот не вызывают гибели клетки, а зачастую наоборот приводят к проявлению адаптивных признаков. Благодаря этому дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* являются удобной моделью для изучения фундаментальных механизмов, обеспечивающих поддержание прионов в клетке. Одним из наиболее хорошо изученных прионов дрожжей является [PSI<sup>+</sup>]. Он представляет собой изоформу белка Sup35, одного из факторов терминации трансляции. В клетках, несущих этот прион, большая часть Sup35p депонируется в виде амилоидных агрегатов. Это приводит к снижению эффективности терминации трансляции и прочтению преждевременных стоп-кодонов, т. е. к нонсенс-супрессии. Это явление очень легко детектировать по росту клеток на селективных средах. Несмотря на продолжительную историю исследований амилоидов и прионов структурная организация этих белковых агрегатов остается неизвестной. При этом, судя по всему, именно структура агрегатов определяет их необычные свойства. Наиболее общепринятой моделью организации прионного домена Sup35p является модель параллельной суперскладчатой  $\beta$ -структуры. С помощью сайт-специфического мутагенеза мы получили пять двойных мутаций в участке SUP35, кодирующем прион-формирующий домен Sup35, и изучили свойства мутантных белков. Аллели *sup35-M1* (YQ46-47KK) и *sup35-M2* (QQ61-62KK) приводили к потере приона [PSI<sup>+</sup>], в то время как остальные мутантные аллели (*sup35-M3*, QQ70-71KK; *sup35-M4*, QQ80-81KK и *sup35-M5* QQ89-90KK) приводили к изменению свойств приона. В частности, изменялась «сила» проявления прионного фенотипа, причем мы получили как более сильный, так и более слабый варианты приона. Кроме этого мы детектировали изменения размеров агрегатов и их термоста-

бильности. На основании полученных данных, мы также смогли уточнить особенности структурной организации агрегатов Sup35p. Таким образом, полученные нами данные могут стать основой для дальнейших направленных изменений свойств прионов и других амилоидов.

Работа поддержана РФФИ (10-04-00237) и программой Президиума Российской академии наук «Происхождение и эволюция гео-биологических систем», НИР СПбГУ (0.37.696.2013, 1.37.113.2011, 1.50.2218.2013), а также ресурсным центром «Развития молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.

#### СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДЛЯ РЕШЕНИЯ ЗАДАЧ МОЛЕКУЛЯРНОЙ И МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ

*Натальин П.Б.*

*Московское представительство Thermo Fisher Scientific, Life Science Solutions Group (Москва), Россия*  
e-mail: pavel.natalin@thermofisher.com

Доклад посвящен применению современных методов генетического анализа (высокопроизводительному полупроводниковому секвенированию и цифровой ПЦР) в медицинской генетике и других областях. Полупроводниковое секвенирование сегодня широко применяется для анализа транскриптомов, целевого (таргетного) секвенирования участков генома человека (включая секвенирование панелей генов, связанных с конкретными заболеваниями, а также анализ полных экзомов), полногеномного *de novo*- и ре-секвенирования геномов бактерий и вирусов для типирования, анализа метагеномов микробных сообществ. Развитие и удешевление технологий секвенирования открывает новые возможности по использованию их для решения таких клинических задач, как предимплантационный генетический скрининг, детекция анеуплоидий, в перспективе, секвенирование полных зародышевых геномов. Области применения цифровой ПЦР определяются уникальной возможностью данного метода проводить абсолютный количественный анализ числа молекул ДНК в образце и находятся среди задач современной онкологии, вирусологии, биобезопасности. Высокая чувствительность и специфичность цифровой ПЦР обеспечивают ей ранг «количественной ПЦР нового поколения» и позволяют данному методу выявлять редкие соматические мутации (менее 1%), единичные копии вирусных частиц, следовые количества чужеродного генетического материала.

#### АЛЬФА-ТЕСТ У ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* – СИСТЕМА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНЫХ СТАДИЙ СТАНОВЛЕНИЯ МУТАЦИЙ И ОЦЕНКИ ТОЧНОСТИ КЛЕТОЧНЫХ ПРОЦЕССОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ СТАБИЛЬНОСТЬ ГЕНОМА

*Степchenkova Е.И.\*<sup>1,2</sup>*, *Жук А.С.<sup>1,2</sup>*, *Ширяева А.А.<sup>1</sup>*, *Андрейчук Ю.В.<sup>3</sup>*, *Коченова О.В.<sup>4</sup>*, *Инге-Вецтомов С.Г.<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>*Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия;*

<sup>2</sup>*Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова, РАН (Санкт-Петербург), Россия;*

<sup>3</sup>*Университет Умео (Умео), Швеция;*

<sup>4</sup>*Медицинский центр университета штата Небраска (Омаха), США*

\*e-mail: stepchenkova@gmail.com

Генетический материал живых организмов постоянно подвергается повреждающим воздействиям. Повреждения ДНК, как спонтанные, так и индуцированные нарушают функционирование генома, они могут приводить к остановке репликации и ги-



бели клетки, а также служить причиной возникновения мутаций. Известно, что ежедневно в каждой человеческой клетке возникает до нескольких тысяч различных повреждений генетического материала, представляющих собой модификации нуклеотидов, потери оснований, разрывы ДНК и др. Большая их часть устраняется системами репарации безошибочно, и лишь небольшая доля первичных повреждений фиксируется в виде мутаций. Хорошо изучены последствия возникновения мутаций, их значение для медицины, эволюции и науки. Из-за временного характера первичных повреждений изучение их влияния на фенотип клетки, а также изучение первых этапов становления мутаций представляется затруднительным. Большинство используемых в генетической токсикологии тест-систем учитывает конечный результат репарации первичных повреждений: генные и хромосомные мутации. Некоторые тест-системы позволяют приблизительно оценить количество крупных повреждений ДНК. Общим недостатком известных методов является то, что они не позволяют обнаружить связь между повреждением в определенном участке генома и конкретным изменением фенотипического признака. Мы предлагаем подход, который позволит решить обозначенные трудности. В нашей лаборатории был разработан уникальный тест, с помощью которого можно учитывать широкий спектр генетических изменений, такие как генные мутации, потери хромосомы или ее плеча, рекомбинационные события и временные предмутационные повреждения ДНК в живых клетках по фенотипическому проявлению. Эта система получила название альфа-тест, поскольку в ней учитывают события, приведшие к незаконной гибридизации клеток дрожжей-сахаромицетов одинакового типа спаривания альфа. Экспериментальные данные, полученные в настоящем времени, указывают на то, что первичные повреждения генетического материала, учитываемые в альфа-тесте, имеют различную молекулярную природу: одно- и двуниевые разрывы ДНК и модификации оснований. Мы показали, что с использованием альфа-теста можно проводить оценку временных параметров существования первичных повреждений в геноме до их устранения системами репарации. Все вместе это делает альфа-тест весьма перспективным для использования в фундаментальных исследованиях механизмов мутагенеза и антимутагенеза.

#### НАСЛЕДОВАНИЕ И ЭКСПРЕССИЯ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ ГЕНОМОВ У ПОТОМКОВ ЯЧМЕННО-ПШЕНИЧНЫХ ГИБРИДОВ

*Трубачева Н.В.*<sup>\*,1</sup>, *Першина Л.А.*<sup>1,2</sup>, *Синявская М.Г.*<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН

(Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>Новосибирский национальный исследовательский университет (Новосибирск), Россия;

<sup>3</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (Минск), Беларусь

\*e-mail: natas@bionet.nsc.ru

Отдаленная гибридизация является классическим методом улучшения генетического потенциала мягкой пшеницы и создания моделей для фундаментальных исследований. Эффективность получения жизнеспособных и фертильных генотипов в результате отдаленных скрещиваний в значительной степени определяется ядерно-цитоплазматическими взаимодействиями между чужеродными ядерными и цитоплазматическими геномами, функционирующими в одном организме. Целью данной работы было изучение наследования и экспрессии ряда митохондриальных и хлоропластных локусов у потомков ячменно-пшеничных гибридов *H. marinum* subsp. *gussoneanum* x *T. aestivum* и *H. vulgare* x *T. aestivum* в процессе формирования аллоплазматических линий мягкой пшеницы. В исследование

были включены линии различных самоопыленных и беккросных поколений, различающихся как по происхождению, так и по структуре ядерного генома. В результате серии возвратных скрещиваний исходных гибридов с различными сортами мягкой пшеницы был сформирован рекомбинантный ядерный геном аллоплазматических линий пшеницы на цитоплазме ячменя *H. vulgare*. У ряда аллоплазматических линий, полученных на основе гибридов *H. marinum* subsp. *gussoneanum* x *T. aestivum*, в ядерный геном произошла интрогрессия хромосом дикорастущего ячменя. С помощью ПЦР и ПЦР-ПДРФ анализа были изучены районы митохондриальной ДНК *cob*, *nad3-orf156*, *18S/5S* и хлоропластной ДНК *ndhH*, *rpoB*, *psaA*, *infA*, *yef5*. Обнаружено, что изученные локусы органелльных ДНК представлены как в гетероплазматическом (присутствие копий обоих родителей), так и в гомоплазматическом (копии только одного из родителей) состоянии. У потомков гибридов *H. marinum* subsp. *gussoneanum* x *T. aestivum* гетероплазмия мтДНК и хпДНК наблюдалась у линий, содержащих в ядерном геноме хромосомы ячменя, независимо от проявления фертильности. Взаимосвязь между гетеро- или гомоплазматическим состоянием и фертильностью растений была обнаружена для линий, полученных на основе гибридов *H. vulgare* x *T. aestivum*. Стерильные и полустерильные растения содержали гетероплазмия мтДНК и гомоплазмия по ячменному типу или гетероплазмия хпДНК. Восстановление фертильности сопровождалось уменьшением количества материнских ячменных копий и увеличением числа копий отцовского пшеничного типа. Изучена экспрессия мт-районов *5'cob*, *nad3-orf156*, *18S/5S* и хп-района *yef5* у растений, для которых была показана гетероплазмия по данным локусам. Для большинства изученных районов наблюдалась экспрессия только одного из родительских типов мт и хпДНК в зависимости от фертильности растений: у стерильных и полустерильных экспрессировались ячменные материнские копии, у фертильных – пшеничные отцовские.

#### ИССЛЕДОВАНИЕ ФАКТОРОВ СБОРКИ И РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ ХРОМАТИНА

*Конева А.Ю.*<sup>\*</sup>, *Макасе А.А.*, *Ильина Ю.А.*, *Игнатьева М.А.*,

*Покровский Д.К.*, *Котлованов Л.В.*, *Королев В.Г.*

ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова (Гатчина), Россия

\*e-mail: konev.alexander@gmail.com

Сборка хроматина это фундаментальный процесс, происходящий в течение всего клеточного цикла в ходе репликации, транскрипции и репарации. Для осуществления сборки хроматина необходимо взаимодействие факторов двух классов – гистоновых шаперонов и АТФ-зависимых хроматин-ремоделирующих белков. Способность собирать хроматин *in vitro* продемонстрирована для АТФ-зависимых факторов АCF и CHRAC дрозофилы, фактора TORC дрозофилы, RSF- фактора человека и белка CHD1. Будут представлены результаты наших исследований функций АТФ-зависимых факторов сборки хроматина в процессах транскрипции, обмена гистонов, репарации и мутагенеза, полученные с использованием классических модельных организмов - дрозофилы и дрожжей. Создана модель для изучения фактора CHD1 дрозофилы, основанная на экспрессии доминант – негативной, либо нативной форм CHD1 под контролем GAL4 – драйверов. Экспрессия обеих форм белка приводит к появлению ярко окрашиваемых антителами на CHD1 и элонгирующую форму РНК полимеразы II деконденсированных участков в политенных хромосомах. Экспрессия и доминант-негативной и нативной форм CHD1 приводит к снижению эффективности независимого от репликации включения гистона H3.3 состав хроматина политенных хромосом. Для исследования роли CHD1 в процессах обмена гистонов в ходе активной транскрипции использована модель теплового

шока. Гиперэкспрессия обеих форм CHD1 приводит к нарушению привлечения белка CHD1 в пуфы теплового шока. При гиперэкспрессии доминант-негативной и нативной форм CHD1, а также у нуль-мутантных особей, после снятия теплового шока нормальная структура хроматина восстанавливается намного дольше, чем у личинок дикого типа, а транскрипция генов теплового шока продолжается даже после исчезновения стимула – теплового стресса. С использованием иммунопреципитации хроматина обнаружено, что у особей с гиперэкспрессией белка CHD1 и его доминант негативной формы, в процессе транскрипции гена теплового шока *Hsp70* наблюдается большая потеря нуклеосом, чем у особей дикого типа. Таким образом, CHD1 необходим для поддержания нуклеосомной структуры в процессе транскрипции, возвращения хроматина в конденсированное состояние и для своевременного прекращения транскрипции. В целом наши исследования функций факторов сборки хроматина *in vivo* показывают, что АТФ-зависимые факторы сборки хроматина участвуют не только в ремоделировании существующего хроматина, но и в сборке хроматина из ДНК и гистонов, и вовлечены в регуляцию процессов репарации, мутагенеза, экспрессии генов и контроль развития многоклеточных организмов.

## ПЕТЕЛЬНЫЕ СТРУКТУРЫ И БАРЬЕРНЫЕ

### ЭЛЕМЕНТЫ ХРОМАТИНА

**Глазков М.В.\***, Шабарина А.Н.

ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (Москва), Россия

\*e-mail: mvglazkov@yandex.ru

Принцип петельно-доменной организации эукариотических хромосом (Gasser, Laemmli, 1987) сыграл важную роль в понимании организации генов в хромосоме. Однако с развитием технологии 3C (*Chromosome Conformation Capture*) и ее модификаций, появились данные о широком распространении взаимодействий между отдельными хромосомными участками, расположенными на большом расстоянии друг от друга. Результатом таких взаимодействий является выпетливание участка хроматина. Все это приводит к расплывчатости понятия «петля» и «топологически замкнутый петельный домен».

Ранее нами была предложена модель компактизации хромосомной ДНК при участии 3-х цепочечных структур ДНК (Глазков, 1999, 2011), в составе одного из фрагментов (*EnvM4*), обуславливающего прикрепление интерфазных хромосом к ядерной оболочке выявлен эволюционно-консервативный трек полипуринов (Шабарина и др., 2006). Было показано, что фрагмент *EnvM4* способен защищать репортерный ген от эффекта положения, и особенно хорошо этот эффект достигается в присутствии инсультатора *Wari* (Шабарина, Глазков, 2013).

При использовании этих исходных данных были проанализированы возможные петельные структуры хроматина локуса *87A2 D.melanogaster*, содержащего гены теплового шока *hsp70Aa* и *hsp70Ab*, длиной более 100 тпн. Выявлены петельные структуры, потенциально способные образовываться при ассоциации интерфазных хромосом с ядерной оболочкой, петельные структуры, образуемые *scs/scs*'-элементами (инсультаторы, барьерные элементы) локуса генов *hsp70* (с участием белков *Zw5* и *BEAF32*), а также петельные структуры, образующиеся при участии 3-х цепочечных структур ДНК. Образующаяся система больших и малых петель соответствует цитологической картине активации генов *hsp70* при тепловом шоке (пуффинг), а также выявленной (Blanton et al., 2003) локализации *scs/scs*'-элементов внутри пуффа, а не на его границах.

Работа поддержана грантом подпрограммы «Динамика и сохранение генофондов» программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития».

## ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОМА ЖИВОТНЫХ

**Баттулин Н.Р.**<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН

(Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет (Новосибирск), Россия

e-mail: battulin@bionet.nsc.ru

Пространственная организация генома эукариот играет важную роль в регуляции активности генов. До недавнего времени единственной возможностью исследования пространственной организации генома в ядре клеток было использование методов световой и электронной микроскопии. Несмотря на то, что многие фундаментальные основы архитектуры ядра были открыты при помощи именно этих методик, микроскопия имеет ряд серьезных недостатков, ограничивающих получение новых знаний об организации генома. Среди таких ограничений можно выделить невозможность привязки микроскопических структур к конкретным последовательностям в масштабе всего генома, а также недостаточно высокое пространственное разрешение. Появление метода захвата конформации хромосом (*chromosome conformation capture*, 3C) позволило изучать хромосомные контакты, используя только молекулярно-биологические подходы. На сегодняшний день на основе 3C разработано целое семейство методов реконструкции пространственной организации генома. Применение 3C технологий позволило установить существование в клетках млекопитающих так называемых топологических доменов - протяженных участков хромосом, для которых характерно большое количество внутридоменных контактов. Причем характер распределения топологических доменов по геному остается одним и тем же в различных типах клеток. Более того, топологические домены эволюционно консервативны и не отличаются у человека и мыши. Таким образом, организация в топологические домены, по-видимому, представляет собой фундаментальную характеристику генома соматических клеток. Известно, что у млекопитающих организация генетического материала сперматозоидов сильно отличается от организации генома соматических клеток. Для уменьшения размера сперматозоида при его созревании происходят преобразования, которые в первую очередь касаются ядра. Ядро уплотняется за счет уникального механизма конденсации хроматина, при котором из ядра удаляются гистоны, а ДНК связывается с особыми белками - протаминами. Для того чтобы выяснить как указанные особенности укладки хроматина влияют на пространственную организацию генома сперматозоида, мы провели полногеномное 3C исследование сперматозоидов и фибробластов мыши. Было показано, что распределение взаимодействующих районов генома сперматозоида очень похоже на распределение в фибробластах (коэффициент корреляции Спирмана - 0,90). Таким образом, несмотря на более плотную укладку генома сперматозоида, общие принципы пространственной организации генома остаются такими же, как и для соматических клеток. Кроме того, было показано, что в отличие от фибробластов укладка генома сперматозоидов мыши хорошо описывается теоретической моделью фрактальной глобулы.

## АДАПТАЦИЯ КЛЕТОК *ESCHERICHIA COLI*

### С КЛОНИРОВАННЫМ ГЕНОМ *recA DEINOCOCCUS RADIODURANS* К ИНАКТИВИРУЮЩЕМУ ДЕЙСТВИЮ ИОНИЗИРУЮЩЕЙ РАДИАЦИИ

**Вербенко В.Н.\***, Гулевич Е.П., Кузнецова Л.В., Бахланова И.В.

НИИ «Курчатовский институт» ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова

(Гатчина), Россия

\*e-mail: verbenko@omrb.pnpi.spb.ru

Три принципиальных механизма могут обеспечить адаптацию к действию вредных факторов среды: положительная Дарви-

новская селекция, горизонтальный перенос генов и изменение регуляции генов. Бактериальный белок RecA – центральный каталитический и регуляторный компонент гомологической рекомбинации, имеющей фундаментальное значение для обеспечения стабильности и динамики генома. RecA также известен из-за его способности регулировать экспрессию как собственного гена, так и многих других репарационных генов в ответ на повреждение ДНК. Несмотря на различия этих функций, они требуют образования активного комплекса RecA-АТФ-ДНК. Белок RecA несет в себе огромный рекомбинационный потенциал, который адаптирован к потребностям клетки. RecA из высоко радиостойчивой бактерии *Deinococcus radiodurans*, экспрессируемый с рекомбинантной плазмиды, не способен компенсировать дефекты гена *recA* умеренно радиочувствительной бактерии *Escherichia coli*. Тем не менее, после серии последовательных облучений возрастающими дозами гамма-радиации оказалось возможным получить мутантные аллели гена *recA* *D. radiodurans*, продукты которых уже способны заменить белок RecA *E. coli* в процессах репарации. Продукт мутантного гена *D. radiodurans recA670* белок RecADR восстанавливает радиостойчивость штамма delta *recA* до уровня дикого типа *E. coli*. Одновременно возвращается чувствительность к мутагенному действию УФ-света, что говорит о способности филамента RecADR расщеплять репрессор SOS-системы LexA. Кроме того, при конъюгации с таким трансформантом регистрируется большая частота рекомбинационных обменов. Этот результат открывает перспективу дальнейшего повышения устойчивости *E. coli* за счет экспрессии гетерологичных белков. Обсуждается роль слаженных белок-белковых взаимодействий в сложном процессе гомологической рекомбинации.

#### МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАДИАЦИОННОГО ГОРМЕЗИСА НА МОДЕЛИ ДРОЗОФИЛЫ

*Москалев А.А.*<sup>\*1</sup>, *Шапошников М.В.*<sup>1</sup>, *Плюснина Е.Н.*<sup>1</sup>, *Шилова Л.А.*<sup>1</sup>, *Земская Н.В.*<sup>1</sup>, *Перегудова Д.О.*<sup>1</sup>, *Данилов А.А.*<sup>1</sup>, *Соловьев И.А.*<sup>1</sup>, *Кудрявцева А.В.*<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии Коми НЦ УрО РАН (Сыктывкар), Россия;

<sup>2</sup>Институт молекулярной биологии РАН (Москва), Россия

\*e-mail: amoskalev@list.ru

Многие токсичные агенты, ингибируя процессы жизнедеятельности при больших концентрациях, в малых дозах оказывают стимулирующий эффект. В середине XX в. Сазам и Эрлих предложили назвать такую U-образную зависимость «доза-ответ» гормезисом, от греческого слова «hormaein», означающего «стимулировать» (Southam, Ehrlich, 1943). С тех пор прошло ровно 70 лет и современные экспериментальные подходы позволили выявить основные механизмы данного явления. Наши собственные данные не только подтвердили существование радиационного гормезиса у дрозофил, но и выявили несколько возможных его механизмов. Важным механизмом радиационного гормезиса является стимуляция экспрессии генов, способствующих предотвращению (гены антиоксидантной защиты), замещению или элиминации клеточных повреждений (гены репарации ДНК, молекулярных шаперонов, автофагии). Наши исследования влияния малых доз ионизирующих излучений на продолжительность жизни линий дрозофил с мутациями генов антиоксидантной защиты, белков теплового шока и репарации ДНК показали их важную роль в радиоадаптации и радиационном гормезисе (Moskalev et al. 2009, 2011). Результаты РТ-ПЦР анализа подтвердили долговременные изменения паттернов экспрессии генов стресс-ответа в результате воздействия малых доз ионизирующего излучения (Moskalev et al., 2011). Применение полногеномного секвенирования

транскриптома позволило нам выявить новые молекулярные механизмы радиационного гормезиса, связанные с изменением экспрессии генов сигнальных путей *Hedgehog*, *Jak-STAT*, *mTOR*, *Notch*, *TFG-beta*, *Hippo*, генов протеасомальной деградации, базальных транскрипционных факторов, эксцизионной репарации нуклеотидов и репарации мисматчей, циркадных ритмов, рибосом, транскрипции, синтеза ДНК и метаболизма ксенобиотиков (Moskalev et al., 2014). Таким образом, зависимость «доза-ответ» в диапазоне малых доз носит сложный и не всегда прогнозируемый характер и радиационный гормезис – одно из проявлений такой неоднозначности. Более правильно определять «гормезис» как эффект гиперфункции системы в результате воздействия ионизирующего облучения, а не как «благоприятное» действие радиации (Ивановский, 2006). Исследования поддержаны грантом “Экологическая генетика продолжительности жизни модельных животных (*Drosophila melanogaster*, *Mus musculus*)” № 12-П-4-1005 целевой программы РАН «Молекулярная и клеточная биология».

#### ЭВОЛЮЦИОННО КОНСЕРВАТИВНАЯ ОСОБЕННОСТЬ ГЕНОВ *NXF1* У ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА: мРНК, СОХРАНЯЮЩАЯ ИНТРОН

*Мамон Л.А.*<sup>\*</sup>, *Кливер С.Ф.*, *Гинанова В.Р.*, *Бычкова Э.О.*, *Маркоска К.*, *Голубкова Е.В.*

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

\*e-mail: mamon@lm2010.spb.edu

У животных и человека большинство генов имеет мозаичное строение: состоят из интронов и экзонов. При созревании транскрипта в ядре интроны вырезаются в результате сплайсинга, и из ядра, как правило, транспортируются только полностью сплайсированные транскрипты. Качество сплайсинга проверяется как в ядре, так и в цитоплазме. У животных и человека активный транспорт различных мРНК осуществляется с участием эволюционно консервативного фактора ядерного экспорта - NXF1 (Nuclear eXport Factor). Характерной особенностью гена *nxf1* у животных и человека является блок гомологичных экзонов (110 и 37 п.о.), разделенных интроном, который может удаляться при сплайсинге или сохраняться в мРНК, поэтому будем называть этот интрон кассетным. Существование мРНК, содержащей кассетный интрон, известно для генов *nxf1* человека (Li et al., 2006) и мыши (Sasaki et al., 2005). Как показано нами, у *Drosophila melanogaster* в тканях головы интрон-содержащий транскрипт гена *Dm nxf1* превосходит в количественном отношении универсальный полностью сплайсированный транскрипт и как правило не выявляется в семенниках. Сравнение генов *nxf1* у животных и человека позволило выявить эволюционно консервативные последовательности в пределах кассетного интрона этих генов у представителей близких таксономических групп. В кассетном интроне гена *nxf1* у позвоночных присутствуют четыре последовательности, одна из которых, содержащая СТЕ (constitutive transport element), была описана ранее (Li et al., 2006). Отличительной особенностью кассетного интрона гена *nxf1* у дрозофил является наличие двух протяженных последовательностей поли(А). Присутствие названных последовательностей в РНК может способствовать ее транспорту из ядра в цитоплазму с участием фактора NXF1. Положение преждевременного нонсенс кодона в кассетном интроне генов *nxf1* у сравниваемых видов также является эволюционно консервативным, а у позвоночных консервативным является и фрагмент аминокислотной последовательности, соответствующей началу кассетного интрона до первого стоп-кодона в интроне. Присутствие в интроне эволюционно консервативных последовательностей позволяет обсуждать фун-



кциональную значимость и происхождение таких последовательностей. Анализ многообразия транскриптов гена *Dm nxf1* у *D.melanogaster* методами RT-PCR, RACE-PCR, REAL-TIME PCR и Нозерн-блот гибридизации показал, что кассетный интрон вносит существенный вклад в транскрипционный потенциал названного гена, присутствуя не только в составе мРНК, сохраняющей этот интрон.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект 12-04-00934а).

## C2-01. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ МЕЙОТИЧЕСКИХ СОБЫТИЙ У РЖИ

**Соснихина С.П.**<sup>\*1, Долматович Т.В.</sup><sup>3</sup>, **Цветкова Н.В.**<sup>1</sup>, **Михайлова Е.И.**<sup>1,2</sup>, **Войлоков А.В.**<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский филиал института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>3</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (Минск), Беларусь

\*e-mail: sosnikhina@mail.ru

Спонтанные мейотические мутанты выделены из сорно-полевой ржи и сорта Вятка путем скрещивания растений популяций с автофертильными линиями и последующим самоопылением гибридов. На базе этого материала создана и совершенствуется генетическая модель для исследования организации мейотического ядра, синапсиса, кроссинговера и структуры мейотических хромосом ржи. Коллекция включает мутанты с полным (*sy1*, *sy9*) и частичным (*sy3*) асинапсисом и асинапсисом, сочетающимся с гетерологичным синапсисом (*sy2*, *sy6*, *sy7*, *sy8*, *sy18*, *sy19*), мутанты, с разной степенью компактизации мейотических хромосом – сверхконденсацией (*mei10*) и неравномерной конденсацией хромосом (*mei8*). Изучение мутантов проводится методами световой и электронной микроскопии, молекулярной цитогенетики, путем секвенирования мейозо-специфичных генов и иммунолокализации рекомбиногенных и структурных белков. На основе гибридологического анализа идентифицированы соответствующие гены, исследованы межгенные и межallelельные взаимоотношения, выявлена эпистатическая группа синаптических генов: *sy10>sy9>sy1>sy3>sy19*. С помощью изомимных и молекулярных маркеров установлено положение на генетических картах пяти мей-генов. Гены *sy9* и *sy18* отнесены к хромосоме 2R, *sy1* и *sy19* – к хромосоме 7R и *sy10* – к хромосоме 5R. Данные по совместному наследованию мей-генов и их положение на генетических картах хромосом ржи позволяют предположить кластеризацию мей-генов: *sy9* и *sy18* на хромосоме 2R, *mei8*, *sy10* и *mei10* на хромосоме 5R, *sy1* и *sy19* на 7R. Для *sy1* и *sy9* обнаружены микросателлитные маркеры, косегрегирующие с этими мутациями, это *Xscm43* (*Xgwm132*) для *sy9* и *Xrems1135* (*Xrems1188*) для *sy1*. Использование этих маркеров для выделения двойных мутантов позволило подтвердить предположение о более раннем включение в действие (эпистаз) гена *sy9* по сравнению с геном *sy1*. Данные по картированию мей-генов позволяют сравнить ортологичные фрагменты генетических карт ржи и хорошо изученных родственных злаков (кукурузы, ячменя, риса и брахиподиума) в отношении локализации известных мей-генов и аннотированных мейозо-специфичных последовательностей, разработать на этой основе консервативные праймеры и провести идентификацию установленных генов ржи в отношении их молекулярной функции.

Работа поддержана грантом Президента РФ поддержки ведущих научных школ, программой фундаментальных исследований президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития»

## C2-02. ОСОБЕННОСТИ МЕЙОЗА У РЖИ

**SECALE CEREALE L.**

**Михайлова Е.И.**<sup>\*1,2</sup>, **Толкачева А.В.**<sup>1</sup>, **Васильева Е.А.**<sup>2,3</sup>, **Соснихина С.П.**<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский филиал института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологии (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>3</sup>Санкт-Петербургский государственный политехнический университет (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: Elena.Mikhailova@paloma.spbu.ru

Мейоз лежит в основе полового воспроизведения и размножения высших организмов. Использованы сравнительно-генетический подход и «Петергофская» коллекция мейотических мутантов *S.cereale* L. для выявления особенностей генетического контроля этого процесса у ржи. Амплифицированы и клонированы гены рекомбиногенных белков Rad51 и Dmc1, использованы методы иммуноцитохимии для локализации их на хроматине в мейозе у ржи с использованием антител к ортологичным белкам томатов. Локализация белков синапсиса Asy1 и Zyp1 у ржи осуществлена с помощью антител к белкам арабидопсиса, что свидетельствует о консервативности структуры эпитопов этих белков у однодольных и двудольных растений. У ржи, как и у пшеницы, кластер теломеров приурочен к переходу от предмейотической интерфазы к мейозу и происходит раньше, по сравнению с кукурузой. У ржи он не обязателен для синапсиса и формируется без нарушений у синаптических мутантов *sy9* и *sy10*. У асинаптического мутанта *sy1* выявлены дефекты «раннего кластера» и локализации Rad51p и Dmc1p, но не сборки линейных трактов Asy1p. Мутация *sy9* нарушает сборку Asy1p, но не приводит к перечисленным дефектам. Выявленный эпистаз гена *SY9*, над *SY1* указывает на независимость ранних событий рекомбинации от начальных этапов синапсиса. Сборка Asy1p и Zyp1p на осях мейотических хромосом начинается у ржи до формирования «ранних кластеров», что отличает рожь от арабидопсиса, риса и кукурузы. У мутанта *sy10* Asy1p и Zyp1p образуют двухполосые линейные треки. Сборка синаптонемного комплекса (СК) осуществляется индискриминантным образом, в рекомбинацию вовлечены гомологичные и негомологичные хромосомы. Ген *sy10*, по-видимому, кодирует белок, соединяющий Asy1pZyp1p в трехполосую структуру СК и завершающий рекомбинацию по гомологичному сценарию. Предложена гипотеза: кластеризация теломеров и центромеров на стадиях предмейотической интерфазы-профазы I у ржи, обеспечивает успешное осуществление ранних событий рекомбинации. Сборка линейных треков Asy1p, является определяющей для завершения рекомбинации, но не для ее инициации. Сборка трехполосого СК необходима для завершения рекомбинации и обеспечивается белком, отличным от Zyp1p.

## C2-03. ЧАСТОТА КРОССИНГОВЕРА У *ARABIDOPSIS THALIANA* (L) НЕУНН В МЕЙОЗЕ МИКРО- И МАКРОСПОРОГЕНЕЗА

**Азаров А.С.**<sup>\*</sup>, **Усатов А.В.**, **Токаренко М.Р.**, **Усатова О.А.**

ФГАОУ ВПО Южный федеральный университет (Ростов-на-Дону), Россия

\*e-mail: bioclon@list.ru

В настоящее время хорошо известна значимая роль кроссинговера в генотипической изменчивости организмов. Также установлено, что его частота достаточно переменный показатель и зависит от множества факторов экзо- и эндогенной природы. В связи с этим исследование эндогенной регуляции частоты кроссинговера в мейозе микро- и макроспорогенеза может поз-



волить увеличить спектр генотипической изменчивости востребованной в селекции. Работу проводили на множественно маркированных линиях арабидопсиса: *an - alb-1<sup>v</sup> - dis-1* и *ch-1 - ap-1 - clv-1* (1-ая пара хромосом), *ap-2 - cer-2* (4-я пара хромосом) расы *Landsberg-erecta* и *as - hy-1* (2-ая пара хромосом) расы *Columbia*. Растения рецессивных гомозигот по изучаемым маркерам, бэккроссов ( $F_b$ ), гибридов  $F_1$  и  $F_2$  выращивали в почвенной культуре при освещенности 4 кЛк и температуре 25° С. Величину рекомбинации (rf) в мейозе микро- (m) и макроспорогенеза (f) определяли с помощью бэккроссов (линия анализатор  $\times F_1$ ), либо одного из бэккроссов и  $F_2$ . Для всех изученных сегментов хромосом установлены более высокие величины рекомбинации в мейозе микроспорогенеза ( $rf_m$ ), чем в мейозе макроспорогенеза ( $rf_f$ ). Этот эффект носит сегменто-зависимый характер. Так, наибольшие различия в частотах кроссинговера обнаружены для зон *ap-2 - cer-2* ( $rf_m - 24,9\%$ ;  $rf_f - 5,8\%$ ) и *alb-1<sup>v</sup> - dis-1* ( $rf_m - 17,1\%$ ;  $rf_f - 4,2\%$ ), а наименьшие – для *clv-1 - ch-1* ( $rf_m - 40,1\%$ ;  $rf_f - 37,5\%$ ). В сегменте *an - dis-1* снижение уровня рекомбинации в женском мейозе сопровождалось увеличением коэффициента коинциденции (C) ( $C_f - 1,47$ ), т. е. преобладанием числа двойных кроссоверов, над теоретически ожидаемым или ослаблением положительной интерференции. В сегменте *clv-1 - ch-1* и в микро- и в макроспорогенезе интерференция положительная ( $C_m - 0,75$ ;  $C_f - 0,3$ ). Таким образом, полученные результаты демонстрируют существенные различия в уровне рекомбинации между микро- и макроспорогенезом. Ранее было показано, что половые различия по уровню рекомбинации у кукурузы связаны с прицентромерным гетерохроматином и характером расположения гетерохроматинных участков в эухроматине относительно центромеры. В связи с этим интересно отметить, что у арабидопсиса в ядрышкообразующей хромосоме 4 с большими блоками гетерохроматина, нами обнаружены наибольшие половые различия по частоте кроссинговера между микро- и макроспорогенезом. Исследование выполнено в рамках темы Министерства образования и науки РФ (№ 4.5642.2011).

#### C2-04. ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ КАРИОТИПА КЛЕТОК КИТАЙСКОГО ХОМЯЧКА CHL V- 79 RJK В ПРОЦЕССЕ ДЛИТЕЛЬНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ПРИ ПОВЫШЕННОЙ ТЕМПЕРАТУРЕ

**Гринчук Т.М.**\*, **Алексеев Л.Л.**, **Арцыбашева И.В.**  
Институт цитологии РАН (Санкт-Петербург), Россия  
\*e-mail: grintat@bk.ru

Известно, что температурный шок (ТШ) является важным стрессорным фактором, приводящим к изменениям в структуре клеточного генома. Вопрос о том, насколько существенные цитогенетические изменения претерпевают клетки в условиях длительной гипертермии остается открытым. Анализ окрашенных дифференциально на G-диски метафазных хромосом клеток CHL V-79 RJK, отобраных на устойчивость к повышенной температуре (40°С вместо 37°С в норме), показал, что в процессе длительного культивирования в условиях гипертермии структура кариотипа претерпевает последовательные изменения, направленные на его дестабилизацию. ТШ, который испытывают клетки на ранних этапах селекции (10 пассажей при t 40°С), сопряжен с повышенной ломкостью определенных хромосом набора, увеличением в популяции числа полиплоидных (околотетраплоидных и единичных суперполиплоидных) клеточных вариантов, и появлением, в некоторых метафазных пластинках, de novo двойных мини-хромосом (ДМ). Дальнейшее культивирование клеток в условиях гипертермии, сначала (около 20 пассажей), приводит к вспышке кариотипической нестабильности, сопровождающейся увеличением разнообра-

зия кариотипически дефектных клеток, а затем (около 35 пассажей и более) - к селективному отбору клеточных вариантов с определенными типами изменений. В результате длительного (около 55- пассажей) селективного отбора терморезистентные клетки приобретают ряд новых генетических характеристик: способность к активной пролиферации в условиях гипертермии, наличие специфических хромосомных маркеров, способность к дестабилизации структуры кариотипа при дальнейшем культивировании. Наличием в определенных хромосомных локусах кариотипического набора терморезистентных клеток ярко выраженных морфологических маркеров генных амплификаций (ГОО, ДОО, пассаж 75), а также способность клеточного генома к дальнейшей дестабилизации в процессе культивирования, позволяет считать, что длительная селекция клеток CHL V-79 RJK на устойчивость к гипертермии приводит к возникновению терморезистентной клеточной линии CHL V-79 RJK-40 с генетическими признаками, свойственными клеткам при неопластической трансформации.

#### C2-05. НОВЫЕ ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА ИНТЕРФАЗНОГО ХРОМАТИНА ЖИВЫХ НЕОКРАШЕННЫХ КЛЕТОК

**Кузнецов А.Б.**<sup>2,3</sup>, **Монахова М.А.**<sup>1</sup>, **Горячева И.И.**<sup>4</sup>,  
**Василенко И.А.**<sup>2</sup>, **Беляков В.К.**<sup>2,3</sup>

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

<sup>2</sup>ГОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова (Москва), Россия;

<sup>3</sup>ООО «Весттрэйд ЛТД» (Москва), Россия;

<sup>4</sup>ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия

\*e-mail: alex.b.kuz@gmail.com

Изучение интерфазного хроматина в большинстве случаев затруднено отсутствием методов быстрой оценки его состояния в условиях скорости и динамики происходящих в нем процессов. Разнообразие белковых взаимодействий с ДНК и РНК, а также между собой, отличающийся состав хроматина различных его участков безусловно определяет те функции и задачи, которые в нем организуются. Как правило, методы анализа интерфазного хроматина основаны на тонком молекулярно-генетическом исследовании, при котором изучаемая клетка фиксируется. При этом зачастую меняется химическая структура хроматина, может деформироваться и ядро клетки. В условиях фиксации архитектура хроматина сохраняется, но исчезает возможность динамического наблюдения процессов, происходящих в ядре. Для анализа динамического изменения состояния интерфазного хроматина предложена модель его компьютерной сегментации и цифровой обработки изображений ядер по оптической плотности. Сегментация ядра недоступна нашему глазу при изучении клеток в оптических системах, но это можно сделать с помощью цифровой обработки изображений. При анализе оптических характеристик интерфазных ядер тестовых объектов получают сегментированные изображения ядер клеток с известными математическими параметрами (координаты расположения сегментов относительно центра ядра, плотности хроматина в каждом сегменте, расстояния между центрами сегментов), с помощью которых можно описать их морфофункциональные характеристики. Материалы и методы: исследование проводили на клетках линии HL60 и лимфоцитах периферической крови человека; для изучения интерфазного хроматина клетки не фиксировались и не окрашивались, анализ оптических свойств ядерного хроматина клеток осуществляли методом сегментации и цифровой обработки изображений, регистрацию сигнала проводили в проходящем свете конфокального микроскопа Carl Zeiss LSM 710 при длине волны лазера 405 нм, оценку плотности хроматина проводили методом когерентно-фазовой

микроскопии (КФМ). При сравнении относительных плотностей сегментированных ядер клеток обнаружена достоверная разница между клетками HL60 и Т-лимфоцитами, как для фракции CD4+, так и для CD8+ лимфоцитов. Количество областей сегментации при этом было одинаковым и статистически не отличалось для всех изучаемых типов клеток. При сравнении относительной плотности между фракциями Т-лимфоцитов не наблюдалось отличий. При этом интересным оказался факт, что относительные расстояния между центрами сегментов ядра для Т-лимфоцитов обеих фракций достоверно больше, чем для клеток линии HL60. Это может свидетельствовать о более упорядоченном и консервативном расположении сегментов в ядрах Т-лимфоцитов по сравнению с ядрами HL60 при условии равного количества этих сегментов в ядрах этих клеток. Наблюдается корреляция между показателями оптической плотности хроматина и значениями фазовой высоты ядер, определенной методом КФМ. Таким образом, описанные результаты могут свидетельствовать о том, что в клетках линии HL60 хроматин представлен менее плотными фракциями, имеет более рыхлую структуру по сравнению с Т-лимфоцитами, что не противоречит фактам. Известно, что клетки линии HL60 имеют миелобластную/промиелоцитарную морфологию: крупные бластные клетки с большим, круглым ядром с 2-4 ядрышками. Цитогенетический анализ клеток линии HL60 показывает наличие большого числа кариотипических аномалий, таких как: моносомии, трисомии и тетрасомии, множества хромосомных транслокаций. Т-лимфоциты являются дифференцированными клетками, хроматин таких клеток более специализирован под выполняемые задачи, большая его часть является гетерохроматином.

#### C2-06. ИЗМЕНЕНИЕ МОРФОЛОГИИ ХРОМОСОМ ТРОФОЦИТОВ В ЯЙЦЕВЫХ КАМЕРАХ ОВАРИОЛ *CALLIPHORA ERYTHROCEPHALA* (Mg.) (DIPTERA: CALLIPHORIDAE)

*Ананьина Т.В.*

Научно-исследовательский институт биологии и биофизики  
Томского государственного университета (Томск), Россия  
e-mail: tany\_a@list.ru

В политрофных овариолах яичников *Calliphora erythrocephala* (Mg.) ооциты формируются в результате функционирования связанных с ними цитоплазматическими мостиками трофоцитов. Кластеры из ооцита и 15-ти трофоцитов образуются в результате четырех митотических делений цистобласта и производных от него клеток. Деления не заканчиваются цитотомией и в зоне перетяжек формируются кольцевые каналы. Число кольцевых каналов у клетки – показатель её митотической активности. Одна из двух клеток, имеющих по четыре кольцевых канала, дифференцируется в ооцит, 15 других становятся питающими клетками (трофоцитами). В ядрах трофоцитов *C. erythrocephala* происходит образование политенных хромосом. Политенные хромосомы формируются в результате редупликации ДНК до 16 С, после чего в течение двух циклов редупликации политенные хромосомы компактизируются и разрыхляются. На стадии максимальной компактизации и полного разделения хроматид количество ДНК в ядрах составляет 64 С. Затем формируются ядра с ретикулярной структурой хроматина, максимальный уровень плоидности которых достигает 4096 С. Был проведен анализ морфологии хромосом трофоцитов (ядра окрашивали DAPI) и связей клеток в кластерах (кольцевые каналы окрашивали фаллоидин-FITC). Обнаружилась общая закономерность: морфология хромосом зависит от положения трофоцита в яйцевой камере. Чем дальше от ооцита располагается трофоцит, тем на более ранних стадиях морфологического преобразования находятся его хромосомы. Следовательно, тем меньший уровень плоидности он имеет. Так, когда в трофоците, возникшем в результате

4-ого митоза и соединенном с ооцитом через 4 кольцевых канала, только сформировались политенные хромосомы, трофоцит, возникший в результате 4-ого митоза и соединенный с ооцитом 1 кольцевым каналом, уже имеет ретикулярную структуру ядра. Четыре трофоцита, непосредственно контактирующие с ооцитом, всегда имеют одинаковую морфологию ядер, не смотря на то, что они произошли в результате четырех следующих друг за другом, митозов. Нарушения оогенеза, такие как дефекты кольцевых каналов, приводящие к затруднению оттока цитоплазмы из трофоцитов в ооцит, изменение количества клеток в кластере (происходит в результате изменения числа делений), нарушения в определении ооцита (в кластере две клетки вместо одной дифференцируются в ооциты), приводят к изменению процесса преобразования политенной структуры хромосом в ретикулярную.

#### C2-07. ТРЕХМЕРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ХРОМОСОМ В ЯДРАХ ТРОФОЦИТОВ У БЛИЗКОРОДСТВЕННЫХ ВИДОВ *DROSOPHILA VIRILIS* И *D. KANEKOI*

*Вассерляуф И.Э.\**, *Усов К.Е.*, *Стегний В.Н.*

НИИ биологии и биофизики Томского государственного  
университета (Томск), Россия

\*e-mail: I-2811-na@yandex.ru

Гетерохроматин выполняет важную роль в ориентации и пространственной упорядоченности хромосом в ядрах клеток эукариот. Известно, что различные перестройки хромосом и перемещение мобильных элементов при видообразовательных процессах приводят к перераспределению гетерохроматина по плечам хромосом, либо к его элиминации. Близкородственные виды группы *D. virilis* филады *montana* отличаются от видов филады *virilis* по количеству и распределению гетерохроматина в хромосомах, а также наличием в кариотипе метацентрической хромосомы 2, возникшей в результате перичентрической инверсии при видообразовании. Целью исследований было провести сравнительный анализ локализации последовательностей ДНК хромосомы в политенных хромосомах этих видов, что позволило бы выявить особенности и изменения пространственной организации хромосом, связанные с эволюционными преобразованиями кариотипов. Нами была проведена микродиссекция хромосомы политенных хромосом слюнных желез *D. virilis*, получена библиотека последовательностей ДНК прицентромерного гетерохроматина и получен ДНК-зонд (DvirII). С помощью FISH гибридизации DvirIII с политенными хромосомами трофоцитов *D. virilis* и *D. kanekoi* была установлена локализация гетерохроматина в прицентромерных районах хромосомы и в прителомерном районе хромосомы 5, а также выявлена видовая специфичность локализации последовательностей ДНК DvirIII. У *D. kanekoi*, в отличие от *D. virilis*, сигнал DvirIII выявлялся в теломерном и центромерном районах хромосомы 2. Нами была проведена 3D FISH ДНК хромосомы политенных хромосом *D. virilis* (DvirIII) с хромосомами трофоцитов *D. virilis* и *D. kanekoi*. В результате была выявлена видовая специфичность распределения сигналов DvirIII в пространстве ядра, так у *D. virilis* сигнал был обнаружен в локальном хромосоме на одном полюсе ядра, а на другом полюсе выявляется сигнал, принадлежащий теломерному району хромосомы 5. В то время как у *D. kanekoi* сигналы DvirIII в пространстве ядра занимают две области. Они располагаются напротив друг к другу и принадлежат прицентромерному району хромосомы 2 и прицентромерным районам остальных хромосом, которые объединены диффузным хромосомом. Эти результаты позволяют считать, что хромосомные перестройки играют важную роль в перераспределении последовательностей ДНК гетерохроматина в геноме, которые являются одним из механизмов видообразования, что в целом, могло повлиять и на изменение ориентации

хромосом в трехмерном пространстве ядра. Исследование проводилось при поддержке гранта РФФИ 13-04-01625

#### **C2-08. ВЗАИМООТНОШЕНИЯ ФАКТОРА ЯДЕРНОГО ЭКСПОРТА РНК (Dm NXF1) У *DROSOPHILA MELANOGASTER* С ЦИТОСКЕЛЕТОМ**

**Голубкова Е.В.\***, **Ацапкина А.А.**, **Кравченко В.В.**, **Мамон Л.А.**  
ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия  
\*e-mail: gelena@EG10217.spb.edu

Белок Dm NXF1 относится к эволюционно-консервативному семейству NXF (Nuclear eXport Factors, факторы ядерного экспорта) и осуществляет глобальный ядерно-цитоплазматический транспорт мРНК, что является универсальной функцией генов-ортологов *nxfl*, имеющихся у большинства эукариот. Доминантные проявления мутантных аллелей гена *Dm nxfl* (*sbr*), затрагивающие расхождение хромосом, формирование аппарата деления клетки, подвижность сперматозоидов, позволяют предположить, что у дрозофилы данному гену соответствует не только универсальная функция, но и специализированные функции, одна из которых – контроль расхождения хромосом в клеточных делениях. Методом иммуноцитологии мы показали, что белок Dm NXF1 локализуется не только в области ядерной оболочки, что соответствует его основной функции, но и в цитоплазме. Причем локализация зависит от типа клеток и стадии клеточного цикла. Известно, что белки NXF1 функционируют в составе макромолекулярных комплексов, в состав которых входят и белки, влияющие на формирование веретена деления, такие как MAP1A, MAP1B (microtubule associated protein) и фактор Gle2/Rae1. Кроме того, в белке Dm NXF1 обнаружена последовательность MtLS – “microtubule tip localization signal”, что делает данный белок потенциальным партнером эволюционно-консервативного белка EB1 (end binding). Белок EB1 играет важную роль в прикреплении белков комплекса +TIPs (microtubule plus-end tracking proteins) к «+»-концам микротрубочек. Система микротрубочек используется клеткой как для транспорта макромолекулярных комплексов в определенные клеточные компартменты, так и для транспорта хромосом к полюсам веретена деления. В области лейцин богатых повторов фактора Dm NXF1 существует последовательность, проявляющая высокую степень сходства с последовательностями легких цепей динеина разных организмов. Выявленные нами нарушения веретена первого деления мейоза у самок, мутантных по гену Dm NXF1 (*sbr*), неслучайная локализация белка в ранних эмбрионах дрозофилы и в цистах мужских генеративных клеток позволяет отнести белок Dm NXF1 к полифункциональным, участвующим не только в ядерно-цитоплазматическом транспорте макромолекул, но и в процессах реорганизации цитоскелета.

#### **C2-09. ВЛИЯНИЕ НАРУШЕНИЙ АКТИНОВОГО КАСКАДА НА ВНУТРИКЛЕТОЧНУЮ ЛОКАЛИЗАЦИЮ БТШ70 У ДРОЗОФИЛЫ**

**Никитина Е.А.\*<sup>1</sup>**, **Долгая Ю.Н.<sup>1</sup>**, **Иванова П.Н.<sup>2</sup>**, **Медведева А.В.<sup>1</sup>**, **Савватеева-Попова Е.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>РГПУ им. А.И. Герцена (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: 21074@mail.ru

Стрессовые белки или белки теплового шока (БТШ) индуцируются при действии различных факторов, вызывающих в

клетке состояние физиологического стресса, играют важную роль в быстром и полном восстановлении исходного метаболизма после окончания стрессорных воздействий. Центральное место в защите клетки в условиях стресса занимают белки семейства БТШ70, относящиеся к молекулярным шаперонам и выполняющие свойственные им функции: участие в сборке вновь синтезированных белков; перенос белков через мембраны органелл; участие в разборке олигомерных белковых структур и протеолитической деградации нестабильных белков; контроль биологической активности регуляторных белков, включая транскрипционные факторы. Универсальные свойства БТШ, обеспечивающие сохранение надлежащей конформации белков, имеют всеобъемлющий характер и могут быть востребованы в самых различных клеточных реакциях и сигнальных каскадах, в частности, каскаде ремоделирования актина, компоненты которого также принимают участие в организации ответа клетки на тепловой шок (ТШ). В связи с этим необходимо исследование влияния ТШ на функционирование LIMK1, ключевого фермента ремоделирования актина. В качестве материала исследования использовали следующие линии дрозофилы: Canton-S – линия дикого типа и *agents3* – мутантная линия, дефектная по синтезу LIMK1, ключевого фермента ремоделирования актина. Использование методики whole mount иммунофлуоресцентного окрашивания органов дрозофилы для конфокальной микроскопии позволило проследить локализацию БТШ70 в нервно-мышечных синапсах личинок данных линий. В интактном контроле и у линии дикого типа Canton-S, и у мутанта *agents3* выявлена низкая интенсивность окрашивания антителами к БТШ70, что свидетельствует о незначительном количестве этого белка в нормальных условиях. БТШ70 колокализуется с ядрами глиальных клеток, это позволяет предположить, что большая часть этого белка находится в глии. Под действием ТШ у линии дикого типа Canton-S интенсивность окрашивания возрастает, т.е. увеличивается количество БТШ70 в ответ на стресс, сохраняется его локализация в глии. У мутанта *agents3* после ТШ интенсивность окрашивания, а следовательно, количество БТШ70 значительно уменьшается; локализуется данный белок преимущественно в глии. Этот факт свидетельствует в пользу предположения о неспособности данной линии к адаптации.

#### **C2-10. РОЛЬ ТЕПЛООВОГО СТРЕССА В СОХРАНЕНИИ СТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМА В ЛАБОРАТОРНЫХ ЛИНИЯХ *MUSCA DOMESTICA***

**Никонов Ю.М.**, **Ахметкиреева Т.Т.**, **Кутаев К.А.**, **Беньковская Г.В.\***

Институт биохимии и генетики УНЦ РАН (Уфа), Россия

\*e-mail: bengal2@yandex.ru

В длительном эксперименте на гетерогенных линиях комнатной мух с укороченной продолжительностью жизни, производных от линии Short gen, мы установили проявление стимулирующего эффекта теплового стресса как повышение выживаемости на стадии личиночно-куколичной трансформации. Одна из них (Short gen-control) была свободна от каких-либо воздействий после 65 поколений отбора на раннюю репродукцию и сокращенную продолжительность жизни, а вторая (конгенная Short gen-stress) на протяжении 10 поколений подвергалась повторяющемуся на каждой стадии онтогенеза кратковременному тепловому стрессу (30 мин при +40 °C). В обеих линиях в варианте с тепловым стрессом большее число особей завершило личиночно-куколичную трансформацию: в линии Short gen-control образовалось на 28,3% больше пупариев, а в линии Short gen-stress – на 15,9% больше, чем в контрольных вариантах. Тенденция к повышению числа успешно



завершивших развитие особей в вариантах с тепловым стрессом сохранилась и на стадии имаго. Одним из факторов, ограничивающих жизнеспособность организмов, является повышенная активность транспозонов в соматических тканях. При помощи количественной RT-PCR мы определяли число копий ДНК транспозона Hermes в мышечно-покровных тканях личинок в конце личиночной стадии, в содержимом 1-суточных пупариев, в мышцах торакса имаго. Нами обнаружено достоверное снижение копийности у особей из стрессуемой линии Short gen-stress по сравнению с конгенной линией Short gen-control. В то же время, у особей в других линиях с укороченной продолжительностью жизни, как гетерогенной Short gen, так и инбредной Short 28, отмечается повышенное число копий ДНК транспозона в соматических тканях. Увеличение копийности транспозона связано, предположительно, с процессами репарации ДНК, при которых происходит предпочтительное внедрение копий транспозона в участки, имеющие разрывы в цепи ДНК. Ограничение размножения ДНК транспозона может быть результатом повышения эффективности клеточных систем репарации ДНК под влиянием слабого стресса, регулярно повторяющегося на всех стадиях онтогенеза. Таким образом, слабый тепловой стресс представляется фактором, сдерживающим увеличение копийности ДНК транспозона Hermes в соматических клетках комнатной мухи, который поддерживает стабильность их геномов, что проявляется, в конечном счете, в повышении жизнеспособности отдельных особей. Работа поддержана грантами РФФИ 12-04-01450-а и РФФИ-Поволжье 11-04-97005-р\_поволжье\_a.

## C2-12. НЕСООТВЕТСТВИЕ МЕЖДУ КАНЦЕРОГЕННОЙ И МУТАГЕННОЙ АКТИВНОСТЬЮ ОРТО-АМИНОАЗОТОЛУОЛА И 3'-МЕТИЛ-4-ДИМЕТИЛАМИНОАЗОБЕНЗОЛА В ОПЫТАХ НА ПОДСОСНЫХ МЫШАТАХ

**Попова Н.А.\***, **Овчинникова Л.П.**, **Каледин В.И.**  
ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН  
(Новосибирск), Россия

\*e-mail: nelly@bionet.nsc.ru

В официальном руководстве для врачей («Канцерогенез» под ред. Д.Г. Заридзе, 2004) и в лекциях студентам МГУ (С.К. Абилов и др., 2012) однозначно утверждается, что в основе канцерогенного процесса лежит накопление мутаций в клеточных онкогенах и антионкогенах и что канцерогенными являются такие вещества и воздействия, которые эти мутации вызывают. Неактивные соединения метаболизируются в организме с образованием метаболитов, способных вызывать мутации. Поэтому для предсказания канцерогенных свойств химических соединений разработаны ускоренные тесты *in vitro* (например, тест Эймса), в которых учитывается число мутаций, вызываемых ими у бактерий. Однако мутагенная активность в таком тесте коррелирует с канцерогенностью соединения для животных не всегда. В наших опытах на подсосных мышатах орто-аминоазотолуол (ОАТ) вызывал образование в среднем по 2,7 \* 0,5 опухолей печени на мышь, а 3'-Ме-ДАБ – по 7,4 \* 1,6, тогда как в тесте Эймса на мутагенность ОАТ вызывал мутаций в 10 - 30 раз больше, чем 3'-Ме-ДАБ. При этом ингибитор метаболической активации аминазоокрасителей пентахлорфенол (ПХФ) при добавлении в активационную среду снижал выход вызываемых ОАТ мутаций в тесте Эймса, но при введении с ОАТ животным в разы увеличивал частоту развития у них опухолей печени. Что касается 3'-Ме-ДАБ, то ПХФ не влиял значительно ни на его мутагенную активность в тесте Эймса, ни на канцерогенную активность в отношении печени мышей. Полученные данные согласуются с развиваемыми нами представлениями о канцерогенезе как о локальном извращении морфогенеза, возникающем при выпадении

или нарушении проведения управляющих сигналов в клетке. Это выпадение (или искажение) сигналов, равно как и нарушение их проведения, может вызываться физико-химическим взаимодействием молекулы канцерогена на основе стерического сродства с сигнальными белковыми молекулами, предположительно факторами транскрипции, регулирующими осуществляющиеся при дифференцировке разворачивание генетических программ. При этом канцерогену нет необходимости повреждать некий ген (онкоген); может оказаться достаточно подействовать на его белковый продукт, инактивируя его до того момента, когда он по программе развития уже не будет нужен (либо пока в какой-нибудь клетке не произойдет инактивирующая этот ген мутация). С этой точки зрения множественные мутации, обнаруживаемые иногда в зрелых опухолях, представляют собой генетическую основу, которую клеточный отбор подводит под формирующийся (или сформированный) опухолевый фенотип.

## C2-13. АБЕРРАНТНАЯ ЭКСПРЕССИЯ МИКРОРНК ПРИ ДЕЙСТВИИ $\gamma$ -КВАНТОВ И МИТОМИЦИНА С

**Тарасов В.А.<sup>1</sup>**, **Матишов Д.Г.<sup>1</sup>**, **Бойко Н.В.<sup>1</sup>**,  
**Тимошкина Н.Н.<sup>1</sup>**, **Махоткин М.А.<sup>1</sup>**, **Ломоносов А.М.<sup>2</sup>**,  
**Кирпий А.А.<sup>2</sup>**, **Шин Е.Ф.\*<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт аридных зон Южного научного центра РАН  
(Ростов-на-Дону), Россия;

<sup>2</sup>ООО «Интерлабсервис» (Москва), Россия

\*e-mail: johnnyeugenie@gmail.com

При использовании метода множественного параллельного секвенирования кДНК-копий микроРНК была оценена экспрессия микроРНК в клетках HeLa при действии  $\gamma$ -квантов и митомицина С в первом клеточном цикле и клетках-потомках через 8 суток после мутагенного воздействия. Было показано, что 3 микроРНК при действии  $\gamma$ -квантов и 21 микроРНК при действии митомицина С увеличили свою экспрессию относительно контроля в 1 цикле после воздействия. Аналогичные показатели для микроРНК с уменьшенной экспрессией составили значения 17 и 16, соответственно. Спустя 8 суток наблюдалась увеличенная экспрессия у 14 и 35 микроРНК и уменьшенная экспрессия у 20 и 30 микроРНК при действии  $\gamma$ -квантов и митомицина С, соответственно. При этом порядка одной трети микроРНК для каждого из случаев воздействия показали сохранение aberrантного изменения экспрессии в ряду клеточных поколений. Среди наследуемых aberrантно экспрессирующихся микроРНК были те, гены-мишени которых включали известные онкогены и гены-супрессоры опухоли, такие как, для miR-148a\* - C-MYC и BCL 2; miR-181a – на K-RAS и ATM; miR-21 – на HMSH 2 и HMSH 6; miR-182 – на BRCA 1; miR-125b – на p53; miR-125a – на ERBB2; miR-21, miR-19b, miR-23b, miR-26a и miR-92a – на PTEN. Существенно, что этот список включает в себя гены-супрессоры опухоли BRCA 1, p53, HMSH 2 и HMSH 6, для которых установлено, что потеря функции одного гена приводит к резкому увеличению риска развития семейных наследуемых форм рака. Сравнительный анализ наследуемых aberrантно экспрессирующихся микроРНК при действии  $\gamma$ -квантов и митомицина С показал наличие общих микроРНК - miR-99b и miR-100. Гены-мишени miR-99b и miR-100 включены в ATM-путь, вовлеченный в ответ клетки на повреждение ДНК, и сигнальный PI3K/AKT/mTOR-путь, который участвует в контроле апоптоза, стабильности генома и дифференцировки клеток, и их функция важна для развития колоректального рака, рака молочной железы, яичников и простаты и т.д. Полученные результаты являются еще одним свидетельством, что канцерогенная опасность мутагенного воздействия может быть связана не только с индукцией генных и структурных мутаций, но и с индукцией эпигенетических изменений генома.



## C2-14. ЦЕЛОСТНОСТЬ ГЕНОМА И ДИАГНОСТИКА ГЕНОМНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ В ЛИМФОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА

**Гончарова Р.И.**

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (Минск), Беларусь*

e-mail: R.Goncharova@igc.bas-net.by

Целостность и стабильность генома лежит в основе устойчивости организма к вредным факторам окружающей среды и развитию патологий. Геномная нестабильность (ГН) возникает вследствие нарушений процессов, вовлеченных в поддержание и репликацию генома, характеризуется увеличенной восприимчивостью клеток к мутагенным эффектам и передачей этого состояния следующим поколениям. Необходимо принимать во внимание вклад ГН в канцерогенез, а также и в общую заболеваемость. Целью нашего исследования было оценить норму реакции генома лимфоцитов у здорового населения Беларуси и выявить некоторые признаки ГН в различных группах риска с помощью метода ДНК-комет. Для этого определены уровни эндогенных и индуцированных повреждений ДНК в изолированных лимфоцитах, обработанных пероксидом водорода ( $H_2O_2$ ) *in vitro*; оценена кинетика и эффективность репарации ДНК за 3 часа инкубации экспонированных клеток при 37°C. Подход использован для диагностики ГН в группах пациентов с клинически предполагаемым диагнозом синдромов хромосомной нестабильности и микроделений [Savina et al., 2011; Savina et al., 2012 a]. Обнаружены различные признаки геномной нестабильности при анемии Фанкони и синдроме Ниймеген, обусловленные молекулярно-генетическими особенностями этих заболеваний, а также аномальный клеточный ответ на повреждения ДНК при синдроме Вильямса-Бойрена. В последнем случае ГН оказалась ассоциирована с микроделечией 7q11.23. Кроме того, целостность генома лимфоцитов крови проанализирована в группе работников, подверженных влиянию профессиональных вредностей [Savina et al., 2012 b]. В ходе исследования выявлены индивидуумы с повышенной чувствительностью лимфоцитов к повреждениям ДНК. Их доля была существенно выше среди пожилых людей и лиц с хроническими воспалительными заболеваниями, что указывало на связь ГН с заболеваемостью. Полученные результаты демонстрировали эффективность и целесообразность использования предлагаемого подхода для диагностики ГН не только в группах риска, но и у отдельных индивидуумов. На основе процентильного метода установлены референтные интервалы, соответствующие норме реакции изолированных лимфоцитов на повреждения ДНК у здорового населения Беларуси. Пограничные показатели, а именно: уровни эндогенных повреждений ДНК, превышающие 15 а.у., начальный и остаточный уровни индуцированных повреждений ДНК, превышающие соответственно 110 а.у. и 25 а.у., а также эффективность репарации ДНК ниже 70% на 180 мин инкубации клеток, – свидетельствуют о ГН. Сравнение индивидуальных параметров с этими величинами позволит выявлять лица с признаками ГН, предрасположенных к патологическим состояниям.

## C2-15. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ПРОЦЕССОВ СВОБОДНОГО ОКИСЛЕНИЯ В МИТОХОНДРИЯХ

**Попов В.Н.\***, **Баишмаков В.Ю.**, **Паневина А.В.**,  
**Солодких С.С.**, **Шматкова М.Л.**

*\*ГОУ ВПО Воронежский государственный университет (Воронеж), Россия*

\*e-mail: pvn@bio.vsu.ru

Методами количественной ПЦР в реальном времени (“real time quantitative polymerase chain reaction, QPCR) и при использовании биочипов высокой плотности получены данные

по влиянию разобщения дыхания и окислительного фосфорилирования на активность и содержания мРНК для ключевых ферментов митохондриального метаболизма, а также по влиянию направленного антиоксиданта SkQ на активность антиоксидантных ферментных систем митохондрий и ключевых ферментов окислительного метаболизма при патологических состояниях, связанных с окислительным стрессом. Нами показано влияние разобщителей дыхания и окислительного фосфорилирования различной природы на скорость митохондриального дыхания, уровень мембранного потенциала и скорость образования активных форм кислорода. Определено участие различных анионных переносчиков в индуцированной свободными жирными кислотами и их перекисями утечке протонов. Изучены непосредственные (*in vitro*) эффекты клинически используемых лекарственных препаратов-активаторов транскрипции митохондриальных и антиоксидантных ферментов (фибраты) и разобщителей окислительного фосфорилирования (жирные кислоты) на эффективность синтеза АТФ, генерацию АФК и детоксикацию АФК на изолированных митохондриях. Установлено защитное влияние направленного антиоксиданта SkQ на скорость митохондриального дыхания, уровень мембранного потенциала и скорость образования активных форм кислорода при патологических состояниях, связанных с окислительным стрессом, в частности при экспериментальном диабете. Изучено влияние перекиси водорода и супероксидрадикала на разобщение дыхания и окислительного фосфорилирования.

Исследования частично поддержаны грантами РФФИ и ФЦП “Кадры”

## C2-16. САЙТ-НАПРАВЛЕННЫЙ МУТАГЕНЕЗ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ САЙТ-СПЕЦИФИЧЕСКИХ НУКЛЕАЗ У МИКРОВОДОРОСЛИ *CHLAMYDOMONAS REINHARDTII*

**Сизова И. А.\*<sup>1</sup>**, **Шалзуев В.И.<sup>1</sup>**, **Greiner A.<sup>2</sup>**, **Hegemann P.<sup>2</sup>**

*<sup>1</sup>Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова РАН (Санкт-Петербург), Россия;*

*<sup>2</sup>Institute for Biology, Experimental Biophysics, Humboldt-Universität zu Berlin (Берлин), Германия*

\*e-mail: irinasiz@yahoo.com

Современные методы сайт-направленного мутагенеза у эукариотических организмов основаны на создании уникального двуцепочечного разрыва (ДЦР) с помощью сайт-специфических эндонуклеаз, среди которых наиболее популярными являются цинк-пальцевые нуклеазы (ЦПН), TALE нуклеазы и рибонуклеопротеидные комплексы Cas9:sgRNA. ДЦР активирует репарационную систему клетки и повышает частоту генных модификаций по месту разрыва хромосомы на несколько порядков. Сайт-специфические нуклеазы успешно использованы для создания заданных модификаций генома у млекопитающих, растений, рыб, насекомых и клеточных культур. В лучших случаях частота мутаций достигала более 50%. У хламидомонады использование сайт-специфических нуклеаз для мутагенеза лимитируется эпигенетическими механизмами, приводящими к эффекту положения и ингибированию экспрессии случайно интегрированных в геном гетерологичных генов (Schroda, 2006). Полученные нами результаты показали, что при транзитной экспрессии в клетках ЦПНы могут служить в качестве молекулярных инструментов у *Chlamydomonas*. С помощью ЦПН, сконструированной на основе базы данных цинк-пальцевых модулей, нами инактивирован ядерный ген *CHRI*. Установлено, что причиной инактивации послужили структурные изменения, индуцированные репарацией ДЦР как посредством мутагенной негомологичной рекомбинации, так и путем гомологичной рекомбинации с внесенным в клетку фрагментом гена *CHRI*, модифицированным короткой вставкой или делецией. Для

выявления мутаций по гену *CHRI* использован прием, позволяющий обогатить клеточную популяцию редкими мутациями, не имеющими выраженного фенотипа. В настоящее время мы также проводим эксперименты по сайт-направленной модификации ядерных генов хламидомонады с использованием TALE нуклеаз и рибонуклеопротеидных комплексов Cas9:sgRNA.

### **C2-17. ЛОКАЛИЗАЦИЯ микроРНК У МЛЕКОПИТАЮЩИХ В МЕЖГЕННЫХ РЕГИОНАХ И ИНТРОНАХ ГЕНОВ ОСИ СОМАТОТРОПИНА**

**Романов Д.Е.\*, Александрова А.А., Бахтадзе Г.Б., Пономарева Н.С., Шкурат Т.П.**

Южный федеральный университет (Ростов-на-Дону), Россия  
\*e-mail: rdme@yandex.ru

На сегодняшний день не вызывает сомнений, что регуляторный потенциал генома во многом определяется микроРНК. Более 2000 микроРНК экспрессируются в клетках человека, участвуя в регуляции эмбрионального развития, дифференцировки, клеточного цикла, апоптоза, старения, определяя, таким образом, судьбу клетки. До 60 % белок-кодирующих генов млекопитающих находятся под контролем микроРНК. В связи с этим в нашем исследовании был проведен сравнительный филогенетический анализ происхождения и эволюции микроРНК в геноме человека и млекопитающих. Приблизительно половины человеческих микроРНК лежат в межгенных регионах и связаны с их собственным транскрипционным промотором. Другая часть микро РНК содержится в интронах (Hinske и др., 2010). В настоящей работе анализировали локализацию микроРНК внутри и вокруг генов *GHI* – соматотропина, *SSI* – соматостатина, *PRL* – пролактина, *IGF1* – инсулиноподобного фактора роста 1 и 2, *IGF1R* – гена рецептора инсулиноподобного ростового фактора I; *FGFR1* и *FGFR2* – генов рецепторов фактора роста фибробластов у современных млекопитающих: *Homo sapiens*, *Rattus norvegicus*, *Mus musculus*, *Pan troglodytes*, *Otolemur garnetti*, *Sorex araneus*, *Erinaceus europeus* *Echinops telfari*, *Pteropus vampyrus*, *Tupaia belangeri*, *Microcebus murinus*, *Tarsier syrichta*, *Macaca mulatta*, *Callithrix jacchus*, *Saimiri boliviensis*, *Nomascus leucogenys*, *Pan paniscus*, *Gorilla gorilla*, *Pongo abelii*, *Mustela putorius furo*, *Felis catus*, *Canis familiaris*, *Ailuropoda melanoleuca* *Tursiops truncatus*, *Loxodonta africana*, *Procavia capensis*, *Equus caballus*, *Sus scrofa*, *Ovis aries*, *Bos Taurus*, *Vicugna pacos*, *Dipodomys ordii*, *Ochotona princeps*, *Ictidomys tridecemlineatus*, *Cavia porcellus*, *Oryctolagus cuniculus*. Все интронные и межгенные нуклеотидные последовательности человека и других животных были получены из базы данных NCBI, а последовательности микроРНК из базы данных miRBase. В качестве программы поиска использовали программу GLAM2 на основе стохастических алгоритмов. Регистрировали зрелую микроРНК при совпадении нуклеотидов с исходной последовательностью более 80% (A. Hill, E. Sorscher, 2013). Перед геном *GHI* человека обнаружено 105 микроРНК, а после данного гена – 127 микроРНК. При этом микроРНК hsa-mir-619, hsa-mir-5095, hsa-mir-1273g, hsa-mir-5096, ppu-mir-1273e были обнаружены в межгенных регионах перед и после гена *GHI*. При попарном сравнении животных обнаружены схожие последовательности микро-РНК.

### **C2-18. НА ПОЛОЖЕНИЕ ХРОМОСОМНЫХ РАЙОНОВ В ЯДРЕ ВЛИЯЕТ АКТИВНОСТЬ ГИСТОНДЕАЦЕТИЛАЗ И АЦЕТИЛТРАНСФЕРАЗ**

**Целебровский М.В.\*, Ненашева В.В., Михалёва Е.А., Швелёв Ю.Я.**

Институт молекулярной генетики РАН (Москва), Россия  
\*e-mail: celebrowsky@yahoo.com

Известно, что районы хромосом, содержащие «молчащие» в дан-

ном типе клеток гены, расположены в ядре в основном вблизи ядерной периферии и находятся в преимущественном контакте с ядерной ламиной. В ходе дифференцировки те генные локусы, которые начинают активно экспрессироваться, как правило, утрачивают контакт с ядерной ламиной и перемещаются внутрь ядра. Ряд литературных данных указывал на возможную роль гистондеацетилазы в удержании хроматиновой нити на периферии ядра и на активность ацетилтрансфераз как факторов, определяющих смещение хроматиновой нити внутрь ядра. Для проверки гипотезы, согласно которой гистондеацетилазы HDAC1 и HDAC3 дрозофилы, находясь в комплексе с ядерной ламиной и деацетилируя контактирующий с ней хроматин, определяют периферийное положение ламина-ассоциированных районов хромосом, были проведены РНКи нокдауны генов гистондеацетилаз HDAC1 и HDAC3 в клетках S2 с последующим анализом удаленности двух хромосомных районов от ядерной оболочки, оцениваемым методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH). При нокдауне гена HDAC1 общее количество ацетилированных гистонов в клетках заметно возросло, но оно практически не менялось при нокдауне гена HDAC3. Анализ расстояний между сигналами гибридизации и ядерной ламиной показал снижение доли сигналов в припериферическом слое ядер при нокдауне гена HDAC3. В то же время, при нокдауне гена HDAC1, кодирующего основной деацетилирующий гистоны фермент, неожиданно наблюдалось приближение районов к ядерной оболочке. Чтобы проверить, приводит ли повышенная активность гистонацетилтрансфераз к удалению хромосомных районов от периферии ядра, был проведен FISH на клетках S2, в которых была экспрессирована ацетилтрансфераза dmHAG407, в норме экспрессирующаяся лишь в терминальных створчатых клетках семенников дрозофилы. Оказалось, что активность данной ацетилтрансферазы приводит к удалению хромосомного района от ядерной оболочки. Аналогично, при искусственной гиперэкспрессии гистонацетилтрансферазы dCBP во фракции глиальных клеток мозга происходило удаление исследуемого хромосомного района от ядерной оболочки. Таким образом, снижение количества гистондеацетилазы HDAC3 и повышение количества двух различных гистонацетилтрансфераз (dmHAG407 и dCBP) меняло хромосомную архитектуру в интерфазных ядрах, вызывая удаление локусов от ядерной оболочки. Полученные данные указывают на возможный механизм регуляции экспрессии и компартиментализации генов в ядре за счет конкурирующего действия между двумя группами ферментов (гистондеацетилаз и ацетилтрансфераз) по регулированию уровня ацетилирования хроматина.

### **РОЛЬ MUS-ГЕНОВ РЕПАРАЦИИ В ПРОЦЕССАХ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК В КЛЕТКАХ ДРОЗОФИЛЫ, ИНДУЦИРОВАННЫХ АКТИВНОСТЬЮ ТРАНСПОЗОНОВ И ХРОНИЧЕСКИМ ОБЛУЧЕНИЕМ**

**Юшкова Е.А.\*, Зайнуллин В.Г.**

ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН (Сыктывкар), Россия

\*e-mail: ushkova@ib.komisc.ru

Исследована роль репарационных *mus*-генов в процессах восстановления повреждений ДНК в клетках *Drosophila melanogaster*, индуцированных перемещениями Р- и hobo-элементов, а также установлены механизмы взаимодействия систем транспозиции мобильных элементов и клеточной репарации в условиях хронического воздействия облучения. Обнаруженные особенности реакций организмов на данные экзо- и эндогенные воздействия говорят о наличии специфики генетического контроля за восстановлением хромосомных повреждений, вызванных радиацией и транспозиционной активностью. Показана четкая «транспозонспецифичность»

включения процессов репарации и их генов. Так, при индуцированных перемещениях Р-транспозонов в отличие от транспозиционной активности hobo-элементов включаются механизмы репарации межнитевых сшивок и O'-этилпиримидиновых нарушений ДНК (ген *mus308*). Повреждения ДНК, вызванные индукцией hobo-элементов, залечиваются преимущественно процессами пострепликационной и рекомбинационной репарации (ген *mus304*). Отмечена также значимость других репарационных генов, вовлеченных не только в процессы пострепликационной репарации (ген *mus205*), но и репарации двуцепочечных разрывов ДНК (ген *mus309*) как в клетках Р-М, так и Н-Е дисгенных особей. Специфичность включения исследуемых генов репарации прослеживается и при одновременном взаимодействии облучения и индукции транспозиционной активности. В условиях хронического низкоинтенсивного облучения эффекты мутаций *mus101* (только при индукции Р-элементов) и *mus304* (при индукции как Р-, так и hobo-транспозонов) усиливают частоту повреждений ДНК в клетках мутантов. Полученные данные свидетельствуют о значимости процессов пострепликационной и рекомбинационной репарации в таком типе взаимодействия. Оценку частоты повреждений ДНК в клетках 20-ти часовых эмбрионов и поздних личинок дрозофил определяли модифицированным методом нейтрального гель-электрофореза изолированных клеток или «ДНК-комет». Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Интеграционного проекта Уральского отделения РАН (12-И-4-2006).

#### ПОИСК БЕЛКОВ, РОДСТВЕННЫХ БЕЛКАМ СИНАПТОМЕРНОГО КОМПЛЕКСА, В ПРОТЕОМАХ РАЗНЫХ ГРУПП ЭУКАРИОТ: ОТ ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ДО МЛЕКОПИТАЮЩИХ

**Гришаева Т.М.\***, **Богданов Ю.Ф.**

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

\*e-mail: grishaeva@vigg.ru

Настоящее исследование посвящено сравнительному анализу структурных белков мейоза – универсального типа деления в половом цикле всех эукариот. Методами *in silico* впервые в одном исследовании проведен поиск в протеомах основных таксонов эукариот белков, родственных известным белкам синаптомерных комплексов (СК) модельных организмов. Всего было исследовано около 11 млн. белков из протеомов основных групп эукариот. Белки латеральных элементов СК, несущие домен NORMA, структурирующий хромосомы (Hsp1 дрожжей, ASY1 и ASY2 растений, HIM-3 нематод), по-видимому, являются самыми универсальными и древними среди белков СК. Родственные им белки найдены во всех таксонах эукариот. Так же универсален фермент FKBP6, аннотированный в качестве компонента СК пока только у мыши. В состав латеральных элементов СК многоклеточных животных входят белки SYCP2 и SYCP3, в других группах эукариот такие белки не встречаются. Особое семейство составляют белки, формирующие поперечные филаменты СК: Zip1 дрожжей, C(3)G дрозофилы, SYP-1 нематоды, ZYP1 арабидопсиса, SYCP1 позвоночных. Они не имеют между собой сходства по первичной структуре, но обладают одинаковой вторичной структурой. Их центральный домен формирует протяженную  $\alpha$ -спираль, необходимую для формирования поперечных филаментов СК. Что касается дополнительных белков, структурирующих центральное пространство СК, то они специфичны для узких групп эукариот. У нематоды это SYP-2, SYP-3 и SYP-4, у позвоночных – SYCE1, SYCE2, SYCE3 и TEX12. В итоге нами получено подтверждение высказанного ранее

предположения о том, что для построения синаптомерных комплексов в разных таксонах эукариот используются разные белки, общим свойством которых является присутствие доменов с определенной конформацией. На основе результатов данной работы можно прицельно искать ортологи белков СК, используя филогенетические деревья. Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант №13-04-02071-а) и Программы Президиума РАН «Живая природа» (подпрограмма «Динамика и сохранение генофондов»).

#### М2-01. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОСТАВА ДНК ПРИЦЕНТРОМЕРНОГО ГЕТЕРОХРОМАТИНА ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМ У БЛИЗКОРОДСТВЕННЫХ ВИДОВ *DROSOPHILA* ГРУППЫ *VIRILIS*

**Усов К.Е.\***, **Вассерлауф И.Э.**, **Алексеева С.С.**, **Стегний В.Н.**

Национальный исследовательский Томский государственный университет (Томск), Россия

\*e-mail: usovke@rambler.ru

Геном эукариот состоит из двух доменов, хорошо различимых как на цитологическом, так и на молекулярном уровнях – гетерохроматина и эухроматина. Среди целого ряда проблем, связанных с изучением гетерохроматина, наибольшее значение, в общебиологическом смысле, представляют проблемы, затрагивающие эволюционную роль гетерохроматина, его возможное участие в процессах видообразования. Известная эволюционная лабильность гетерохроматина на молекулярном и цитогенетическом уровне до сих пор не оценена по отношению к ключевому феномену эволюции – видообразованию. Поэтому в данном контексте представляется актуальным изучение гетерохроматина у филогенетически близких видов. Удобным объектом для этой цели являются близкородственные виды *Drosophila* группы *virilis*. Известно, что *D. virilis* является наиболее древним, и, по-видимому, предковым видом для всей группы *virilis*, включающей в себя 12 родственных видов, которые подразделяют на две филалды – *virilis* и *montana*. Здесь особое значение имеет изучение гетерохроматина и пространственной организации ядра в клетках генеративной системы (трофоциты яичников). Поскольку было установлено, что в клетках генеративной системы пространственное расположение политенных хромосом в ядре носит видоспецифичный характер, в то время как в клетках соматической системы подобной особенности не было обнаружено. В настоящей работе нами была проведена микродиссекция хромоцентра политенных хромосом *D. virilis* и получена район-специфичная библиотека ДНК. Далее проведена флуоресцентная *in situ* гибридизация этой ДНК-библиотеки с политенными хромосомами видов *Drosophila* группы *virilis*. На основании проведенного сравнительного анализа распределения последовательностей ДНК из хромоцентра *D. virilis* на политенных хромосомах видов группы *virilis* были сделаны следующие выводы: 1) обнаружена видовая специфичность локализации последовательностей ДНК хромоцентра *D. virilis* на политенных хромосомах видов группы *virilis*, что особенно ярко проявилось у видов относящихся к разным филаладам (*virilis* и *montana*); 2) показано, что межвидовые различия в архитектуре ядер трофоцитов у видов разных филалд группы *virilis* отражаются на характере распределения район-специфичной ДНК-библиотеки хромоцентра *D. virilis*; 3) обнаружены как общие, так и тканеспецифичные районы локализации последовательностей ДНК хромоцентра *D. virilis* на политенных хромосомах трофоцитов и клеток слюнных желез близкородственных видов группы *virilis*. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 13-04-01625.



## M2-02. ВЛИЯНИЕ ФАКТОРА CHD1 НА ИЗМЕНЕНИЯ ПУФФИРОВАНИЯ В ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМАХ В ХОДЕ РАЗВИТИЯ ДРОЗОФИЛЫ

Макасе А. А.\*, Конев А. Ю.

ФГБУ Петербургский институт ядерной физики

им. Б.П. Константинова (Гатчина), Россия

\*e-mail: anna.makase@gmail.com

Для осуществления процессов метаболизма ДНК в эукариотической клетке (репликации, транскрипции, репарации, рекомбинации) необходимы преобразования хроматина. Консервативный хроматин-ремоделирующий белок CHD1 был охарактеризован как ключевой фактор в независимой от репликации сборке хроматина, происходящей в мужском пронуклеусе дрозофилы. В политенных хромосомах CHD1 ко-локализуется с элонгирующей формой РНК полимеразы II. Для мобилизации нуклеосом и сборки хроматина CHD1 использует энергию АТФ. Инактивация АТФ-азного домена превращает его в доминант-негативную форму не способную осуществлять этот процесс. Исследование политенных хромосом показало, что как экспрессия доминант негативной формы белка CHD1, так и гиперэкспрессия белка дикого типа в слонных железах начиная с эмбриональной стадии развития приводит к сильной декомпактизации определенных участков хромосом. Иммуноокрашивание антителами на белок CHD1 и элонгирующую форму РНК полимеразы II выявляет яркое окрашивание во всех сайтах с измененной структурой, свидетельствуя о том, что деконденсация этих районов хромосом ассоциирована с процессом активной транскрипции. Проведено картирование участков политенных хромосом деконденсированных при экспрессии доминант – негативной формы белка CHD1 у личинок на 4х пуфовых стадиях в ходе развития в сопоставлении с изменениями профиля пуфирования у особей дикого типа. Большинство регулируемых в онтогенезе пуфов у особей с гиперэкспрессией доминант – негативной формы CHD1` развиты сильнее, возникают уже на 1-2й пуфовых стадиях и не регрессируют в соответствующий период развития. В результате, в одной хромосоме оказываются развитыми пуфы, характерные для различных сменяющих друг друга пуфовых стадий. Наблюдается и возникновение дополнительных пуфов, не присутствующих у особей дикого типа. В то же время выявляются и участки хромосом, в которых CHD1 находится в междисках как у особей дикого типа, но структура хроматина не изменена. Сравнение полученных результатов с данными А. Луссер, выявившей гены, экспрессия которых изменена у нуль-мутантных по гену *Chd1* личинок, позволило определить ряд генов, являющихся наиболее вероятными кандидатами для исследований роли CHD1 в регуляции тонкой структуры хроматина и экспрессии генов. Нарушение нормального функционирования CHD1 в результате гиперэкспрессии его доминант – негативной формы способствует увеличению пуфирования политенных хромосом и препятствует восстановлению нормальной структуры хроматина, а также прекращению транскрипции тех генов, которые, вероятно, являются мишенями регуляции фактора CHD1.

## M2-03. НУКЛЕОПОРИН ELYS ДРОЗОФИЛЫ ВЛИЯЕТ НА АРХИТЕКТУРУ ХРОМОСОМ В ИНТЕРФАЗНОМ ЯДРЕ

Доронин С.А.\*, Федотова А.А., Ненашева В.В., Лавров С.А.,

Михалёва Е.А., Шевелёв Ю.Я.

Институт молекулярной генетики РАН (Москва), Россия

\*e-mail: semdor@nm.ru

Хотя представление об упорядоченном положении хромосом в интерфазном ядре как следствии контактов хромосом с ядерной оболочкой возникло достаточно давно, ответственные за этот процес механизмы все еще далеки от понимания. К структурным

элементам ядерной периферии, которые могли бы участвовать в удерживании определенных хромосомных районов вблизи ядерной оболочки, относят ядерную ламину и ядерные поры. Недавно выяснилось, что сравнительно короткие, но часто встречающиеся участки в геноме дрозофилы вступают в контакт с ядерными порами, однако неясно, какие именно компоненты ядерных пор определяют это связывание. Было показано, что нуклеопорин ELYS ксенопуса, связываясь с хроматином, определяет закладку пор в ядерную оболочку в ходе ее восстановления в конце митоза. Ортологи ELYS обнаружены у организмов от нематоды до человека, включая *D. melanogaster*, где кодируемый геном CG14215 вероятный ортолог dElys оставался не охарактеризованным. Чтобы охарактеризовать dElys дрозофилы и прояснить его роль в определении положения хромосомных районов в ядре нами были получены антитела к С-концевому фрагменту dElys. Методом иммуноокрашивания было показано, что dElys располагается преимущественно на ядерной оболочке клеток S2. Снижение количества ламина (Dm0) методом РНКи приводило к колокализации dElys с ядерными порами в дискретных скоплениях на ядерной оболочке. Однако сильное снижение количества dElys не приводило к полной потере ядерных пор. Вхождение dElys в общий комплекс с субкомплексом ядерных пор Nup107-Nup160 было продемонстрировано методом коиммунопреципитации. При транзientной трансфекции клеток S2 конструкцией pEGFP-dElys флуоресценция EGFP наблюдалась как на периферии ядра, так и в виде неоднородного окрашивания нуклеоплазмы, демонстрируя способность dElys связываться с хроматином. Иммуноокрашивании политенных хромосом антителами к dElys выявило его локализация в междисках, что также подтверждало способность dElys связываться с хроматином. Методом FISH (fluorescence in situ hybridization), проведенной с зондом к району неактивного хроматина, на S2 клетках, обработанных двуцепочечной РНК к dElys, было выявлено достоверное удаление хроматинового района от ядерной оболочки, причем аналогичное смещение наблюдалось как при нокадауне гена ламина Dm0, так и при совместном нокадауне ламина Dm0 и dElys. Полученные результаты показывают, что dElys дрозофилы является компонентом ядерных пор, взаимодействует с хроматином и необходим для локализации хромосомных районов вблизи ядерной оболочки.

## M2-04. САЙТЫ ЛОКАЛИЗАЦИИ ЛАМИНА Dm0 НА ХРОМОСОМАХ ТРОФОЦИТОВ D. MELANOGASTER

Коханенко А.А.\*, Стегний В.Н.

Национальный исследовательский Томский государственный университет (Томск), Россия

\*e-mail: alinakokhanenko@gmail.com

Выявление принципов организации хромосом в объеме ядра на сегодня является одним из главных направлений изучения регуляции экспрессии генома. Особенно интересна функция ядерной ламины, так как показано, что ламина играет важную роль в регуляции экспрессии генов в ходе дифференцировки. Ламин - это фибриллярный белок, который «выстилает» ядерную оболочку с внутренней стороны ядра. Контакты хромосом с ядерной оболочкой могут возникать вследствие взаимодействия ДНК с белками ядерной ламины, либо белков хроматина с белками ядерной ламины. Исследование механизмов поддержания пространственной организации хромосом и обеспечения их динамики представляется важной задачей для понимания того, как работает клеточное ядро. Целью нашего исследования было - провести анализ локализации сайтов прикрепления хромосом к оболочке ядра у *D. melanogaster* подгруппы «*melanogaster*». Ламин Dm0 является основным компонентом ядерной ламины, он обнаружен в ядерных оболочках всех клеток дрозофилы. В ходе проведенного исследования были описаны сайты локализации ламина Dm0 в центральных облас-



тях 3R, 2L, 2R плеч хромосом. Эти результаты совпадают с полученными ранее с помощью рутинной окраски полудавленных препаратов хромосом трофоцитов *D. melanogaster*. Известно, что компактная хромосома 4 располагается в зоне прикрепления центромерных районов хромосомы 3. Нами было показано, что хромосома 4 имеет два района локализации ламина Dm0, один из которых ориентирован к центромерной области 3R плеча, содержащий сайт локализации Dm0. Также впервые были описаны районы прикрепления, расположенные в интеркалярных областях 3R, 2R плеч хромосом. Относительно хромосомы XL не было получено достаточной выборки исследования, чтобы можно было убедительно судить о сайтах локализации ламина Dm0. Данная работа это начало большого исследования – целью которого является выявление особенностей прикрепления хромосом в ядрах трофоцитов близкородственных видов подгруппы «*melanogaster*». Подгруппы «*melanogaster*» включает виды, которые имеют четыре типа взаиморасположения хромосом в пространстве ядер трофоцитов: хромоцентральная организация хромосом (*D. oreana*), диффузный хромоцентр (*D. simulans*), отсутствие хромоцентра (*D. mauritiana*), наличие районов прикрепления хромосом к оболочке ядра (*D. melanogaster*). Это комплексное исследование позволит провести соответствие между особенностями пространственного расположения хромосом в ядре и распределением районов прикрепления на хромосомах. Все это будет способствовать пониманию взаимосвязи между дифференцировкой клеток, пространственной организации и функционированием генома. Работа выполнена при поддержке стипендии Президента РФ СП-1037.2013.4.

#### **M2-05. БЛОЧНЫЙ ХАРАКТЕР ИНАКТИВАЦИИ ПРИ ЭФФЕКТЕ ПОЛОЖЕНИЯ У ДРОЗОФИЛЫ КОРРЕЛИРУЕТ С ЛОКАЛИЗАЦИЕЙ ИНАКТИВИРУЕМЫХ РЕГИОНОВ ХРОМОСОМ В ПРОСТРАНСТВЕ ЯДРА**

**Шаких А.С.\***, Лавров С.А., Абрамов Ю.А., Гвоздев В.А.  
ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН (Москва),  
Россия

\*e-mail: shackih@narod.ru

Эффект положения – эпигенетически наследуемое нарушение экспрессии гена при изменении его положения в геноме, связанное с изменением структуры хроматина под влиянием нового геномного окружения. Исследования проводились на *Drosophila melanogaster*, использовалась оригинальная генетическая модель, представляющая собой хромосому с инверсией *In(2)A4*, в результате которой блок прицентромерного гетерохроматина был разорван и перенесен в эухроматин, что привело к мозаичной цис-инактивации близлежащих эухроматиновых участков хромосомы. Кроме цис-инактивации данная хромосома способна также индуцировать мозаичную транс-инактивацию репортерного трансгена в перестроенной оппозитной гомологичной хромосоме. Была обнаружена неравномерность и блочный характер транс-инактивации репортерных конструкций по мере удаления от точки разрыва гетерохроматина, причем некоторые трансгены, расположенные на незначительном расстоянии друг от друга, проявляли разную чувствительность к транс-инактивации. Примечательной особенностью является то, что имеются четко различимые достаточно протяженные области, гены в которых инактивируются, и области, в которых транс-инактивации не наблюдалось. Так транс-инактивация не была обнаружена в районе локализации кластера гистоновых генов. Было предложено, что инактивация связана с перемещением инактивируемых участков хромосомы в гетерохроматинный компартмент ядра. В этом случае блочный характер транс-инактивации может быть связан с тем, что участки хромосомы, в которых наблюдается транс-инактивация трансгенов, перемещаются в гетерохромати-

новый компартмент ядра, где подвергаются гетерохроматинизации, при этом участки хромосомы, не подвергающихся транс-инактивации, остаются вне гетерохроматинного компартмента. Данные, полученные с помощью лазерной конфокальной микроскопии, показали, что под влиянием хромосомы с инверсией транс-инактивируемый регион действительно перемещается в гетерохроматинный компартмент ядра, в отличие от области, не подвергающейся транс-инактивации (кластер гистоновых генов), в то время как в контроле исследованные регионы находятся вне гетерохроматинного компартмента. Также была показана колокализация гомологичных участков оппозитных хромосом в пространстве ядра, что может указывать на их физический контакт. Полученные данные свидетельствуют в пользу модели, в соответствии с которой разорванный в результате инверсии блок гетерохроматина попадает в гетерохроматинный компартмент ядра и затягивает в него прилежащие эухроматинные участки, при этом также затягиваются гомологичные участки оппозитной хромосомы, что вызывает их транс-инактивацию.

#### **M2-06. ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ДНК, АССОЦИИРОВАННОЙ С ЯДЕРНОЙ ОБОЛОЧКОЙ**

**Шабарина А.Н.\***, Глазков М.В.

ФГБУН Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН  
(Москва), Россия

\*e-mail: shabarina@mail.ru

Ядерная оболочка — это не только структурный компонент ядра, но и полноценная функциональная единица, участвующая в различных клеточных процессах. В настоящее время получены многочисленные данные о том, что участки связывания ДНК с различными внутриядерными структурами, включая ядерную оболочку, играют важную роль в упорядочивании генетического материала в ядре и в регуляции экспрессии генов. Изучение последовательности ДНК, выделенной из ядерных оболочек гепатоцитов мыши (яоДНК), показало наличие в ее составе высококонсервативного участка, копии которого встречаются в геномах эволюционно далеких друг от друга организмов (от бактерий до человека). Эти данные позволяют предполагать существование общего (“древнего”) нуклеотидного мотива, обуславливающего прикрепление хромосомной ДНК к клеточной/ядерной оболочке. Экспериментальный анализ яоДНК проводили с использованием трансгенной системы на основе генов *yellow* и *white D. melanogaster*. Было показано, что фрагмент яоДНК способен защищать фланкируемые трансгены от эффекта положения, при этом регуляторной функцией в транскрипции изучаемый фрагмент не обладает. Кроме того, нами были получены мухи, содержащие трансген, в состав которого входят последовательности яоДНК, а также инсулятор *Wari*, обнаруженный ранее в 3' области гена *white*. Нами показано, что в присутствии инсулятора *Wari* наблюдается более высокий уровень экспрессии трансгенов, фланкированных последовательностями яоДНК. Эти данные говорят о том, что эти элементы могут взаимодействовать между собой, что свидетельствует о существовании кооперативного действия яоДНК и инсуляторов. Проведенные эксперименты не выявили способность последовательности яоДНК выполнять функцию инсулятора, то есть препятствовать взаимодействию между энхансером и промотором. Тем не менее в полученных трансгенных линиях экспрессия репортерных генов оказалась существенно подавлена, хотя функциональные части конструкции не были повреждены при встраивании. Это может быть обусловлено специфическим местом локализации трансгена в хромосоме/объеме ядра. Возможно, изучаемый фрагмент оказывает влияние на место встраивания трансформируемой конструкции в “хозяйские” хромосомы или обуславливает ее локали-

зацию в специфических областях ядра.

Работа поддержана грантом Подпрограммы “Динамика и сохранение генофондов” Программы фундаментальных исследований Президиума РАН “Живая природа: современное состояние и проблемы развития”.

## M2-07. РОЛЬ ГЕНА *DM NXF1* (*SMALL BRISTLES*, *SBR*) В КОНТРОЛЕ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ВЗРОСЛЫХ ОСОБЕЙ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

*Просовская А.О.\**, *Мамон Л.А.*

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

\*e-mail: anna.prosovskaya@gmail.com

Универсальной и жизненно важной функцией эволюционно-консервативных белков NXF1 у разных организмов является экспорт мРНК из ядра в цитоплазму. По нашему предположению, у *D. melanogaster* белок Dm NXF1 (SBR), помимо ядерного экспорта мРНК, выполняет и специализированные функции. К аллель-специфичным проявлениям мутации *sbr<sup>12</sup>* относятся нарушение брачного поведения и стерильность самцов, изменение у самцов морфологии зрительных долей и эллипсоидного тела головного нервного ганглия. Названные нарушения проявляются у самцов, гетерозиготных по летальному аллелю *sbr<sup>12</sup>*, несущих аллель дикого типа в составе участка X-хромосомы, транслоцированного в Y-хромосому (*Dp(1:Y)<sup>+</sup>v<sup>+</sup>*). Это позволяет рассматривать их как доминантные проявления мутантного аллеля *sbr<sup>12</sup>* с рецессивным летальным действием. Гетерозиготные самки фертильны и не обнаруживают существенных нарушений структуры зрительных долей и других отделов головного нервного ганглия. Проводили сравнение двигательной активности самцов и самок *D. melanogaster* в стандартном тесте на отрицательный геотаксис в зависимости от присутствия в их генотипе мутантного аллеля *sbr<sup>12</sup>* или изменения дозы аллеля дикого типа, используя при получении гибридных самок или самцов особей с нулевым аллелем гена *sbr* - делецией участка X-хромосомы, содержащего этот ген (*Df(1)vL4*). Такой подход позволяет сравнить влияние нулевого и мутантного (*sbr<sup>12</sup>*) аллелей как у самок, так и у самцов, а также оценить, равноценны ли аллели *sbr<sup>+</sup>* в одной дозе у самцов в зависимости от того, имеет ли ген привычную для него локализацию в X-хромосоме или измененную - в Y-хромосоме. Показали, что самцы разных возрастных групп генотипа *sbr<sup>12</sup>/Dp(1:Y)<sup>+</sup>v<sup>+</sup>*, гетерозиготные по аллелю *sbr<sup>12</sup>*, имеют существенные нарушения двигательной активности ( $p < 0.001$ ) во всех возрастных группах. Промежуточное значение двигательной активности характерно для самцов *Df(1)vL4/Dp(1:Y)<sup>+</sup>v<sup>+</sup>*, несущих одну дозу аллеля *sbr<sup>+</sup>* в Y-хромосоме, по сравнению с самцами *sbr<sup>12</sup>/Dp(1:Y)<sup>+</sup>v<sup>+</sup>* и самцами линии дикого типа. Это свидетельствует о том, что присутствие мутантного белка SBR<sup>12</sup>, как и изменение локализации аллеля *sbr<sup>+</sup>*, оказывает негативное влияние на двигательную активность. Аналогичный анализ двигательной активности самок разных генотипов показал, что самки генотипа *sbr<sup>12</sup>/sbr<sup>+</sup>* по сравнению с самками других генотипов проявляют снижение двигательной активности только в возрастной группе 10-13 суток, что свидетельствует о доминантном влиянии мутантного аллеля *sbr<sup>12</sup>*, проявляющемся у самок с возрастом. Работа выполнена при поддержке РФФИ (12-04-00934а)

## M2-08. ВЛИЯНИЕ СВЕРХЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ РЕГУЛЯЦИИ ЦИРКАДНЫХ РИТМОВ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

*Добровольская Е.В.\*<sup>1</sup>*, *Плюснина Е.Н.<sup>1,2</sup>*, *Москалев А.А.<sup>1,2,3</sup>*

*<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН (Сыктывкар), Россия*

*<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Сыктывкарский государственный университет (Сыктывкар), Россия;*

*<sup>3</sup>ФГАОУ ВПО Московский физико-технологический институт (государственный университет) (Долгопрудный), Россия*

\*e-mail: dobrovolskaya.evgenia@gmail.com

Большинство организмов, включая человека, подвергаются воздействию такого важного фактора окружающей среды как свет. Суточные и годовые колебания светового режима влияют на сон, двигательную активность, рост, размножение, линьку и многие другие процессы у животных. В ходе эволюции выработались специфические механизмы, которые обеспечивают адаптацию организма к естественным колебаниям интенсивности света и формированию циркадных ритмов. Изменение спектрального состава или режима освещения, которые наблюдаются в высоких широтах или вызваны световым загрязнением от искусственных источников освещения, могут приводить к дестабилизации функционирования данных систем, проявлению патологических реакции и изменению скорости старения. Большинство генов циркадных ритмов человека являются эволюционно консервативными и имеют ортологи у плодовой мушки *Drosophila melanogaster*. Установлено, что в головах старых дрозофил наблюдается снижение экспрессии гена светочувствительного белка Cryptochrome, в то время как его сверхактивация у старых особей приводит к замедлению скорости старения (Rakshit, Jadwiga, 2013). С другой стороны, дрозофилы с мутациями в генах циркадных ритмов характеризуются сниженной продолжительностью жизни (Kondratov, Antoch, 2007). Целью данной работы было исследовать влияние сверхактивации генов циркадных ритмов (*Period*, *Timeless*, *Doubletime*, *Clock*, *Cycle*, *Cryptochrome*) на продолжительность жизни *Drosophila melanogaster*. Для этого производили кондиционную (мифепристон-индуцибельную) активацию экспрессии исследуемых генов с помощью UAS/GAL4 системы в нервной системе мух, после чего оценивали показатели продолжительности жизни. Результаты проведенного исследования демонстрируют роль генов регуляции циркадных ритмов в детерминации продолжительности жизни и скорости старения *Drosophila melanogaster*. Работа поддержана Грантом Президиума РАН 12-П-4-1005 «Экологическая генетика продолжительности жизни модельных животных (*Drosophila melanogaster*; *Mus musculus*)».

## M2-09. ОСОБЕННОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ НЕЙРОСПЕЦИФИЧНОГО НОКДАУНА ГЕНОВ В ИССЛЕДОВАНИИ МОТОРНЫХ ФУНКЦИЙ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

*Федотов С.А.\**, *Брагина Ю.В.*, *Молотова Н.Г.*

*Даниленкова Л.В.*, *Камышева Е.А.*, *Панова А.А.*, *Камышев Н.Г.*

*Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН*

*(Санкт-Петербург), Россия*

\*e-mail: serg900@yandex.ru

В целях выявления генетических детерминант моторных функций нами была выполнена оценка эффекта нейроспецифичного нокдауна ряда генов дрозофилы на различные параметры локомоции и песни ухаживания самцов мух. Подавление экспрессии генов осуществлялось в нервных клетках путем синтеза интерферирующей РНК через систему трансгенов *GAL4/UAS*. В данной системе экспрессия трансгена, кодирующего интерферирующую РНК, активируется белком GAL4. Постановка трансгена GAL4 в хромосомах дрозофилы под контроль промоторов тканеспецифичных генов (драйвер) позволяет локализовать РНК-интерференцию в различных системах и группах клеток организма. В то же время, используя индуцируемые модификации GAL4, можно устанавливать стадию развития (личинка или имаго), на которой будет подавляться экспрессия гена. В нашем исследовании были проанализиро-

ваны отклонения в моторной активности мух при нокдауне 10 генов под контролем нейроспецифичных драйверов *elav-GAL4*, *appl-GAL4*, *nrv2-GAL4*, а также драйвера *tsh-GAL4*, направляющего экспрессию преимущественно в торакоабдоминальном ганглии дрозофилы. Нокдаун всех генов приводил к отклонениям по одному или нескольким параметрам. Оценивались скорость побегов, длительность и частота инициаций побегов и посылки импульсной песни (ИП), межимпульсный интервал ИП. Эффекты нокдауна того или иного гена на отдельные параметры под контролем различных драйверов могли быть сонаправлены, иметь противоположные знаки либо отсутствовать. Методом количественной ПЦР было подтверждено, что РНК-интерференция под контролем всех четырех драйверов приводит к подавлению экспрессии генов. Анализ литературных данных об особенностях паттернов экспрессии используемых драйверов и сведений о физиологических механизмах, определяющих тестируемые параметры моторной деятельности, позволил предположить вероятные нарушения, вызываемые нокдаунами генов, в нервной системе. В частности, анализ моторных отклонений при нокдауне гена *CG15630* под контролем различных драйверов привел к предположению о вовлеченности данного гена в регуляцию моторного паттерна песенной активности со стороны сенсорных органов. В экспериментах с использованием системы *GAL4/UAS* для подавления экспрессии *CG15630* на стадии имаго и для морфологического анализа нарушений в структурах ЦНС мух с нокдауном данного гена было подтверждено, что *CG15630* необходим, как для функционирования моторных систем, определяющих паттерн ИП, так и для их развития. Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ №13-04-12030-офи-м и №13-04-02153а, а также Программ Президиума РАН № 30 и № 7.

#### **M2-10. ПРОСТРАНСТВЕННОЕ ОБУЧЕНИЕ В ВОДНОМ ЛАБИРИНТЕ МОРРИСА У МЫШЕЙ С ГЕНЕТИЧЕСКИМИ ОТЛИЧИЯМИ В ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К КАТАЛЕПСИИ: ВЛИЯНИЕ НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА МОЗГА**

**Хоцкин Н.В.**\*, **Фурсенко Д.В.**, **Базовкина Д.В.**, **Куликов В.А.**  
ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН  
(Новосибирск), Россия  
\*e-mail: Shverter@mail.ru

Наследственная катаlepsия у мышей сопровождается уменьшением объема некоторых структур головного мозга и нарушениями иммунной системы. Закономерно предположить, что данные изменения могут повлиять на когнитивные способности животного. Ассоциацию между наследственной катаlepsией и когнитивными способностями мышей изучали в водном лабиринте Морриса (ВЛМ), который является одной из основных методик изучения обучения и механизмов пространственной памяти у лабораторных грызунов. Эксперименты проводили на половозрелых самцах мышей устойчивой к катаlepsии линии AKR и катаlepsических линий СВА и AKR.СВА-D13Mit76 (D13). Последняя получена в результате переноса СВА-аллеля главного гена в геном AKR. Исследование проводили на оригинальной установке с инвертированным освещением, позволяющим автоматически обнаруживать белых животных на белом фоне. Данные регистрировали и анализировали с помощью программы EthoStudio. Животные в течение четырех последующих дней обучались находить скрытую под водой платформу. На пятый день платформу убрали и проверяли способность животных помнить расположение платформы. Мыши линий AKR и СВА быстро обучались находить платформу, тогда как большинство мышей линии D13 не смогли обучиться находить платформу в

течение четырех дней. Животные трех линий не помнили положение платформы на пятый день. Однократное введение трехсот нанogramм нейротрофического фактора мозга (BDNF) в боковые желудочки головного мозга за неделю до теста значительно улучшило способности мышей D13 к обучению в ВЛМ. Более того большинство животных D13, которым ввели BDNF, помнили положение платформы на пятый день. Таким образом, линия D13 с низкими показателями обучения является многообещающей моделью для изучения генетических и молекулярных механизмов расстройств обучения и памяти, а так же для скрининга потенциальных усилителей когнитивных функций.

#### **M2-11. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АКТИВНОСТИ ТРИГГЕР ФАКТОРА ИЗ МЕЗОФИЛЬНЫХ И ПСИХРОФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ В ПРОЦЕССЕ РЕНАТУРАЦИИ ЛЮЦИФЕРАЗ**

**Горянин И.И.**\*, **Мелькина О.Е.**, **Манухов И.В.**,  
**Завильгельский Г.Б.**

ФГУП Государственный НИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов (Москва), Россия  
\*e-mail: ignatgoryanin@gmail.com

Определены основные параметры процесса ренатурации (рефолдинга) термоинактивированных люцифераз, осуществляемого триггер фактором (ТФ) из мезофильных и психрофильных бактерий или шапероном DnaKJE. В работе использованы гибридные плазмиды, содержащие гены *tig*, изолированные из геномов мезофильных (*Escherichia coli*) и психрофильных (*Psychrobacter frigidicola*) бактерий и кодирующие ТФ. В качестве субстратов использовали гетеродимерные ( $\alpha\beta$ ) бактериальные люциферазы *Aliivibrio fischeri*, *Photobacterium leiognathi* и *Vibrio harveyi*, а также мономерные люциферазы – светлячковую (*Luciola mingrelica*) и бактериальную (*Vibrio harveyi*). Показано принципиальное отличие психрофильного ТФ от мезофильного ТФ: если мезофильный ТФ с увеличением внутриклеточной концентрации быстро снижает активность в качестве шаперона, то психрофильный ТФ, как и шаперон DnaKJE, активности не снижает, а его активность при высоких концентрациях выходит на плато. Что же касается уровня рефолдинга, то мезофильный и психрофильный ТФ проявляют примерно равную шаперонную активность, значительно уступающую шаперону “теплового шока” DnaKJE. Показано, что в присутствии ТФ восстановление ферментативной активности (рефолдинг) наблюдается только у гетеродимерных, но не мономерных люцифераз. Показано, что компонент бишаперонной системы DnaKJE-CtpV шаперон CtpV оказывает негативное влияние на эффективность действия ТФ.

#### **M2-12. СИСТЕМА ДЛЯ ПРЕДАМПЛИФИКАЦИОННОЙ РЕПАРАЦИИ ДНК-МАТРИЦ**

**Юдкина А.В.**\*,<sup>1</sup> **Довгерд А.П.**<sup>2,3</sup>, **Жарков Д.О.**<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Новосибирский национальный исследовательский государственный университет (Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>3</sup>ООО «СибАкадемТехнологии» (Новосибирск), Россия

\*e-mail: yudkinaanya@gmail.com

Несмотря на то, что ДНК в живой природе используется в качестве основного носителя генетической информации, химическая стабильность этой молекулы ограничена. При жизни организма системы репарации противостоят накоплению повреждений в ДНК, однако со смертью организма, эти процессы перестают работать и повреждения накапливаются в ДНК



необратимо. Накопление повреждений в ДНК может представлять проблему в тех случаях, когда необходим анализ ее последовательности. Например, эффективность полимеразной цепной реакции (ПЦР) резко снижается при таких распространенных повреждениях ДНК, как окисление или апуринизация. Это особенно актуально в исследованиях «древней ДНК» из образцов возрастом от сотен до сотен тысяч лет и ДНК в криминалистической и судебно-медицинской практике. Нами были разработаны модельные системы деградированных высокомолекулярных ДНК с преобладанием различных типов поражений, характерных для постмортальной ДНК, и было показано, что эффективность ПЦР на них резко снижается. В большинстве случаев посмертные повреждения ДНК расположены напротив неповрежденного основания в комплементарной цепи и, следовательно, могут быть репарированы. Нами создается набор, включающий несколько основных ДНК-гликозилаз, АП-эндонуклеазу, ДНК-полимеразу и ДНК-лигазу, совместное действие которых приводит к репарации значительной части повреждений в анализируемой ДНК перед ее использованием в качестве матрицы для ПЦР. В частности, для одного из основных окислительных повреждений ДНК – 8-оксогуанина – нами была воссоздана система репарации с использованием 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы Fpg *E. coli*, AP-эндонуклеазы Nfo *E. coli*, ДНК-полимеразы  $\beta$  человека и ДНК-лигазы фага T4. Также мы предлагаем включать в набор для ПЦР термостабильные транслезионные ДНК-полимеразы для эффективного преодоления остаточных повреждений в процессе амплификации. Предполагается, что основное применение разработанная нами система, в которой ферменты репарации используются для улучшения качества деградированной ДНК матрицы перед ПЦР, найдет при анализе «древней» ДНК, а также анализе ДНК в клинической и судебно-экспертной практиках. Исследование поддержано госконтрактом МОН РФ № 14.512.11.0085.

#### **M2-13. ОЦЕНКА ВКЛАДА РЕКОМБИНАЦИОННОЙ РЕПАРАЦИИ В ОБЕСПЕЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АЛЬФА-ТЕСТА У ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

**Ширяева А.А.** <sup>\* 1, Жук А.С.</sup> <sup>1,2, Степченко Е.И.</sup> <sup>1,2, Инге-Вечтомов С.Г.</sup> <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Санкт-Петербург), Россия

\*email: AnnaBiologic@gmail.com

Гомологичная рекомбинация является важнейшим механизмом, обеспечивающим устранение двунитевых разрывов ДНК (ДРД), а также преодоление блока репликационной вилки. Ключевым компонентом данной системы у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* является белок Rad52. Процессы репарации не всегда реализуются точно. В результате ошибок репарации ДРД могут приводить к наследуемым изменениям: хромосомным перестройкам и мутациям. Часть повреждений устраняется безошибочно, но процесс репарации может занимать значительный промежуток времени. За этот период первичные повреждения способны нарушать экспрессию генов и приводить к временному изменению фенотипа. Уникальной системой, позволяющей регистрировать частоту как наследуемых, так и временных повреждений, является альфа-тест. В альфа-тесте критерием генетической активности фактора является изменение частоты «незаконных» скрещиваний между клетками одинакового типа спаривания  $\alpha$  у дрожжей *S. cerevisiae* в присутствии данного фактора. «Незаконные» скрещивания становятся возможными в результате нарушения экспрессии локуса *MAT*, контролирующего тип спаривания

у *S. cerevisiae*, и временного или необратимого изменения типа спаривания дрожжевой клетки с альфа на  $\alpha$ . Клетки *S. cerevisiae* могут вступать в гибридизацию только на стадии G1 клеточного цикла. Поэтому в альфа-тесте событие «незаконной» гибридизации маркирует не только факт повреждения локуса *MAT*, но также указывает на то, что данное событие проявилось в виде переключения типа спаривания на стадии G1. Эта особенность позволяет использовать альфа-тест для отслеживания длительности существования повреждений ДНК в клеточном цикле. Известны мутагены, специфически действующие на определенных стадиях клеточного цикла. Например, камптотecin вызывает ДРД на стадии S, а сочетание мутации *apn1* с обработкой клеток метилметансульфонатом приводит к накоплению ДРД на стадиях G1 и G2. В данной работе мы использовали оригинальный подход, сочетающий преимущества альфа-теста с воздействием специфическими мутагенами на штаммы с делецией *rad52* $\Delta$ . Мы показали, что значительная часть спонтанных повреждений, а также повреждений, индуцированных УФ, устраняется с помощью системы гомологичной рекомбинации. В отсутствие системы гомологичной рекомбинации ДРД, индуцированные на стадии S, приводят к гибели клеток и не могут проявиться фенотипически в альфа-тесте. При этом ДРД, индуцированные на стадии G2, могут приводить к хромосомным aberrациям с последующей «незаконной» гибридизацией на стадии G1.

#### **M2-14. МОЛЕКУЛЯРНАЯ ПРИРОДА ПЕРВИЧНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ И НАСЛЕДУЕМЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА, ВЫЯВЛЯЕМЫХ В АЛЬФА-ТЕСТЕ У ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

**Жук А.С.** <sup>\* 1,2, Ширяева А.А.</sup> <sup>1, Андрейчук Ю.В.</sup> <sup>3, Степченко Е.И.</sup> <sup>1,2, Инге-Вечтомов С.Г.</sup> <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>3</sup>Университет Умео (Умео), Швеция

\*email: ania.zhuk@gmail.com

Большинство наследуемых изменений генетического материала является следствием ошибочной репарации спонтанных и индуцированных первичных повреждений ДНК. Показано, что первичные повреждения ДНК, которые закрепились в виде генных или геномных мутаций, приводят к изменению фенотипических признаков клеток, однако данных о возможности фенотипического проявления первичных повреждений до их устранения системами репарации и превращения в наследуемые изменения генетического материала очень мало. Мы изучили фенотипическое проявление первичных повреждений ДНК и их судьбу после репарации с использованием альфа-теста. Альфа-тест основан на «незаконном» скрещивании гетероталлических дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* одинокого типа спаривания альфа. В альфа-тесте первичные повреждения ДНК нарушают экспрессию локуса *MATa*, контролирующего тип спаривания дрожжевой клетки, что приводит к временному или постоянному переключению типа спаривания с альфа на  $\alpha$  и делает возможным «незаконное» скрещивание дрожжевых клеток, исходно имеющих тип спаривания альфа. Этот метод позволяет определить частоту разнообразных наследственных изменений: генных мутаций, потерь хромосом, плеча хромосомы, рекомбинационных события, а также частоту первичных повреждений генетического материала, безошибочно устраняемые репарацией. Для того чтобы определить молекулярную природу первичных повреждений ДНК, способных проявляться фенотипически, мы исследовали действие эталонных мутагенов в

комбинации с дефектами систем репарации в альфа-тесте. Мы показали, что в альфа-тесте фенотипически проявляются модификации оснований, неспаренности нуклеотидов и двунитевые разрывы ДНК. Ранее мы показали, что генные мутации, учитываемые в альфа-тесте локализируются, как в локусе *MAT*, так и за его пределами. С целью определения геномной локализации первичных повреждений, учитываемых в альфа-тесте, мы использовали два подхода. Во-первых, мы проверили влияние дополнительной копии локуса *MATa*, контролирующего тип спаривания у дрожжей, на частоту «незаконного» скрещивания двух штаммов альфа типа спаривания. Кроме того, мы показали, что при индукции потери III хромосомы, несущей локус *MATa*, существенно возрастает частота «незаконной» гибридизации. Полученные данные свидетельствуют о том, что абсолютное большинство генетических событий, учитываемых в альфа-тесте, затрагивает локус *MAT*, расположенный в хромосоме III, хотя небольшая доля учитываемых событий (не более 2%) происходит за пределами локуса *MAT*.

#### **M2-15. ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ В МАЛЫХ ДОЗАХ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ СТРЕСС-ОТВЕТА И микроРНК В КУЛЬТУРЕ НОРМАЛЬНЫХ ФИБРОБЛАСТОВ ЧЕЛОВЕКА**

**Плюснина Е.Н.**<sup>\*,1,2</sup>, **Москалев А.А.**<sup>1,2,3</sup>, **Вележанинов И.О.**<sup>1</sup>, **Moustaqil M.**<sup>5</sup>, **Blinkie M.**<sup>4</sup>, **Клоков Д.Ю.**<sup>4</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии Коми НЦ УрО РАН (Сыктывкар), Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Сыктывкарский государственный университет (Сыктывкар), Россия;

<sup>3</sup>ФГАОУ ВПО Московский физико-технологический институт (государственный университет) (Долгопрудный), Россия;

<sup>4</sup>Chalk River Laboratories, Atomic Energy Canada Limited (Чок-Ривер), Канада;

<sup>5</sup>University of Montpellier (Монпелье), Франция

\*e-mail: ekaterina.plyusnina@gmail.com

Исследовали влияние гамма-излучения в дозах 12.5 мГр и 100 мГр на скорость старения нормальных фибробластов челове-

ка линии *Hfl-1*, активность генов стресс-ответа и микроРНК. Облучение фибробластов на ранних этапах культивирования привело к замедлению клеточного старения, что проявлялось в снижении количества клеток с накопленной β-галактозидазой в 1.4-2.7 раза вплоть до репликативного старения. Данные изменения подтверждаются сглаживанием возрастного повышения транскрипционной активности маркеров клеточного старения - *p19* и *p21* в облученных клетках по сравнению с необлученными. В результате облучения происходило ослабление возраст-зависимых изменений активности генов антиоксидантной защиты (*SOD2*, *CAT*) и апоптоза (*TNFSF10*, *PUMA*). Например, в старых необлученных клетках экспрессия *SOD2* повышалась в 37 раз, тогда как в предоблученных клетках - всего в 11-18 раз. Значительных изменений в экспрессии генов репарации ДНК, репарации и протеолиза белков, эпигенетической регуляции, энергетического обмена после воздействия ионизирующего излучения в дозах 12.5 мГр и 100 мГр не выявлено. Однако показаны возраст-зависимые изменения экспрессии гена репарации ДНК *RAD51*, генов ростовых факторов *FGF1* и *FGF2* и ряда генов распознавания повреждений ДНК, апоптоза, пролиферации клеток, детоксикации свободных радикалов, эпигенетической регуляции и энергетического метаболизма в облученных и необлученных фибробластах. Радиационно-индуцированное замедление клеточного старения было сопряжено с изменением профиля экспрессии микроРНК. Наиболее значительными оказались различия между необлученными и облученными фибробластами по активности *miR-210* (влияет на продукцию активных форм кислорода и ответ на повреждение ДНК) и *miR-30a* (опосредует индуцированное клеточное старение). В необлученной культуре фибробластов их активность в старых клетках повышалась до 8 раз, а воздействие гамма-излучения в малых дозах снизило экспрессию этих микроРНК с возрастом, что может быть одним из механизмов радиационного гормезиса. Проведенные исследования демонстрируют роль активности отдельных генов и микроРНК в клеточном старении и феномене радиационного гормезиса. Работа поддержана Грантом Президиума РАН 12-П-4-1005 «Экологическая генетика продолжительности жизни модельных животных (*Drosophila melanogaster*, *Mus musculus*)».

# ГЕНОМИКА, ПРОТЕОМИКА, БИОИНФОРМАТИКА И СИСТЕМНАЯ БИОЛОГИЯ

## ВЛИЯНИЕ МЕТОДА ПОДГОТОВКИ ДНК-БИБЛИОТЕК НА РЕЗУЛЬТАТЫ ПОЛНОГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

*Черняева Е.Н., Комиссаров А.С., Добрынин П.В., Липидус А.Л. \**  
Центр геномной биоинформатики им. Ф.Г. Добржанского,  
Санкт-Петербургский государственный университет  
(Санкт-Петербург), Россия  
\*e-mail: piterlabs@gmail.com

Полногеномное секвенирование (ПГС) ДНК различных организмов приобретает все большее значение в наши дни. Снижение стоимости секвенса и увеличение производительности современных платформ для ПГС делает этот процесс все более доступным. Одним из важнейших этапов секвенирования является пробоподготовка, а именно, качественная подготовка библиотек, позволяющая получать данные, используемые как для анализа нуклеотидных вариаций, так и для сборки генома *de novo*. Первым этапом подготовки ДНК-библиотек является фрагментирование геномной ДНК, которое может осуществляться как физическими методами, так и ферментативно. Целью исследования являлась оценка влияния различных методов фрагментирования геномной ДНК на результаты ПГС. В качестве материала для нашего исследования была использована геномная ДНК, выделенная из нескольких видов организмов. Образцы геномной ДНК фрагментировали с использованием ультразвуковых гомогенизаторов Q800R (QSonica sonicators) и Biopuptor Standard (Diagenode), а также с помощью фермента dsDNA Fragmentase (New England Biolabs). Фрагменты ДНК требуемого размера вырезали из агарозного геля и проводили обработку концов фрагментов для последующего секвенирования. Секвенирование проводили с помощью платформы MiSeq (Illumina). Полученные результаты анализировали путем сборки геномов *de novo* с использованием сборщика данных SPAdes (<http://bioinf.spbau.ru/spades>) и сравнением качества сборки (QUAST - <http://bioinf.spbau.ru/en/quast>), а также выравниванием ридов на референсный геном. Полученные результаты будут представлены в докладе.

## СЕКВЕНИРОВАНИЕ ЕДИНИЧНЫХ КЛЕТОК. ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

*Жерновков В.Е.*

Компания Хеликон (Москва), Россия  
e-mail: v.zhernovkov@helicon.ru

Клетка является фундаментальной единицей, в которой генетический код транслируется в биологические формы и функции. Значительная часть нашего сегодняшнего понимания генома и механизмов его регуляции была получена в ходе исследова-

ний, проведенных на уровне целой популяции – условие, при котором анализируются тысячи или миллионы клеток одновременно. В результате такого подхода пренебрегают индивидуальными неоднородностями, которые могут возникать в популяции. Вместе с тем, благодаря экзогенным факторам в геноме отдельной клетки существует вероятность появления случайных генетических мутаций. Такие мутации накапливаются со временем и способны играть в организме важную роль, связанную с происхождением и прогрессированием комплексных заболеваний – старения, рака, иммунных и нейродегенеративных заболеваний. Подобные мутации часто не фиксируются при одновременном секвенировании всех клеток образца, увеличивая тем самым риск потери важной информацию о причинно-следственных механизмах заболевания. Учет таких мутаций может помочь выбрать наиболее эффективную терапию. Благодаря успехам в разработке методов полногеномной и полно-транскриптомной амплификации сегодня мы можем секвенировать ДНК и РНК, выделенные из единичной клетки. Это обстоятельство открывает новые возможности к пониманию природы геномной и транскриптомной генетогенности, которое имеет место, как при нормальном генезе, так и в развитии заболевания. В настоящем докладе будет дан обзор основных технологических достижений, перспективы использования метода в биологии и медицине.

## ЛАНДШАФТ МОТИВОВ В ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯХ ДНК, СВЯЗЫВАЮЩИХ РЕГУЛЯТОРНЫЕ БЕЛКИ, И АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ НА РЕГУЛЯЦИЮ ТРАНСКРИПЦИИ

*Воронцов И.Е., Кулаковский И.В., Makeev В.Ю. \**

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

\*e-mail: vsevolod.makeev@vigg.ru

Предсказание сайтов связывания транскрипционных факторов (ТФ, ССТФ) с точностью до одного нуклеотида является необходимой предпосылкой для оценки отрицательного эффекта однонуклеотидных вариантов (ОНВ) в геноме. В настоящее время существует ряд баз данных характерных сегментов ДНК, т.н. «мотивов», связывающих ТФ. Мотивы, полученные на основе данных различных экспериментальных методов или различными вычислительными методами, могут достаточно сильно отличаться друг от друга из-за систематических ошибок. Простое объединение коллекций известных мотивов, таким образом, приводит к появлению многих похожих, но не идентичных мотивов для одного и того же транскрипционного фактора. С целью достижения максимального размера коллекции различных мотивов для анализа однонуклеотидных регулятор-



ных замен мы провели кластеризацию матриц позиционных весов (МПВ) из пяти наиболее представленных открытых коллекций (HOCOMOCO, HOMER, JASPAR, SwissRegulon, и коллекция, полученная с использованием технологии HT-SELEX). Используя метрику Жаккарда для сравнения МПВ и агломеративную UPGMA-кластеризацию было получено 856 различных мотивов для 530 факторов, что составляет около 30% всех ТФ человека. Разработана программа PERFECTOS-APR, позволяющая при наличии библиотеки мотивов оценивать возможные последствия регуляторных замен в геноме человека.

#### ПРОСТРАНСТВЕННО РАСПРЕДЕЛЕННЫЕ МОДЕЛИ ЭВОЛЮЦИИ В СИМБИОТИЧЕСКИХ/АНТАГОНИСТИЧЕСКИХ ПРОКАРИОТИЧЕСКИХ СООБЩЕСТВАХ

**Матушкин Ю.Г.\*<sup>1,2</sup>, Клименко А.И.<sup>1</sup>, Лащин С.А.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН

(Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет (Новосибирск), Россия

\*e-mail: mat@bionet.nsc.ru

В природе прокариоты живут в составе огромных сообществ, эволюция которых зачастую не может быть редуцирована до эволюции отдельных особей или популяций. Одним из основных инструментов исследования эволюционных механизмов в таких сообществах является математическое и компьютерное моделирование. Разработанный нами программный комплекс «Гаплоидный эволюционный конструктор» (ГЭК) позволяет описывать сообщество на генетическом, метаболическом, популяционном и экологическом уровнях организации. ГЭК позволяет исследовать модели как в среде с полным перемешиванием субстратов и клеток (0D) так и в средах с пространственным распределением (1D, 2D и 3D). Построена модель эволюции прокариотического сообщества вида «отравитель-жертва», состоящего из двух популяций. Популяция P1 – отравляет популяцию P2 субстратом s2, в то время как P2 кормит популяцию P1 субстратом s1. В этой модели наблюдаются различные динамические режимы (стационарные, колебательные). Исследовалась эволюция популяций P1 и P2 в модели 0D. Скорость потери (исходно одинакового) генетического разнообразия популяции – вымывание слабоприспособленных аллелей – почти в два раза выше для жертв P2. Введение пространственной компоненты усложняет поведение сообщества и делает его более устойчивым к мутациям. Наличие популяции жертвы, безусловно необходимое для жизнедеятельности всего сообщества в 0D-среде (среда с полным перемешиванием), не является таковым для всех регионов пространственно распределённого сообщества, даже для случая 1D-среды. Фактически, наличие жертв-производителей субстрата необходимо только в некоторых районах пространства, если в дальнейшем этот субстрат может транспортироваться в другие районы (например, с помощью протока). Исследованы пространственно распределённые модели изменения генетической сложности симбиотического прокариотического сообщества. Ранее было показано влияние условий окружающей среды на режимы эволюции такого сообщества: в жестких условиях среды наблюдалось усложнение генетической структуры сообщества, тогда как в мягких условиях – упрощение. Показано, что пространственная неоднородность в прокариотических сообществах может обуславливать большую вариативность в скорости протекания эволюционных процессов. В частности, в 1D-модели наблюдается значительно более сильные различия в скорости эволюции по сравнению с 0D-случаем. Среднее время потери генетического разнообразия у жертв и отравителей различается примерно в 10 раз, в то время, как в 0D случае мы наблюдали разницу только в ~2 раза.

Работа поддержана грантами РФФИ 12-07-00671, 13-04-00620, Программой Президиума РАН 28.

#### ФАРМАКОГЕНОМИКА РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА: ПОЛИГЕННЫЙ ПОДХОД

**Кулакова О.Г.\*<sup>1</sup>, Царева Е.Ю.<sup>1</sup>, Данилова Л.В.<sup>2</sup>,**

**Фаворов А.В.<sup>2</sup>, Бойко А.Н.<sup>1</sup>, Фаворова О.О.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова Минздрава России (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия

\*e-mail: olga.koulakova@gmail.com

По данным различных клинических испытаний, 30-50% больных рассеянным склерозом (РС) остаются невосприимчивыми к терапии этого аутоиммунного воспалительного заболевания иммуномодулирующими препаратами – интерфероном-бета (ИФНб) и глатирамера ацетатом (ГА). В основе формирования у больных РС индивидуального ответа на лечение в значительной степени лежит генетическая вариабельность. Исходя из предположения, что при полигенном заболевании ответ на лечение носит полигенный характер, изучали ассоциацию полиморфизма генов иммунного ответа (*IFNG*: rs2430561; *TNF*: rs1800629; *IFNB1*: rs1051922; *TGFB1*: rs1800469; *IFNARI*: rs1012335; *IL7RA*: rs6897932; *CCR5*: rs333, *CTLA4*: rs231775, *HLA-DRB1*), порознь и в сочетаниях, с эффективностью лечения. Группы сравнения – больные с оптимальным клиническим ответом и больные без него (все остальные) – сформированы для каждого из препаратов на основании идентичных клинических критериев. Для выявления сочетаний аллелей/генотипов использовали алгоритм APSampler, основанный на методе MCMC (<https://code.google.com/p/apsampler>). Показана значимая ассоциация аллелей *TGFB1*\*C ( $p=0.0062$ ) и *CCR5*\*d ( $p=0.036$ ) с оптимальным ответом на лечение ИФНб. Выявлено, что носительство сочетаний (*CCR5*\*d+*IFNARI*\*G+*IFNB1*\*T/T) или (*CCR5*\*d+*IFNARI*\*G+*IFNG*\*T) увеличивает шансы эффективной терапии в 14.3 и 2.8 раз, соответственно ( $p=0.0028$  и 0.057, соответственно). Выявлено биаллельное сочетание (*DRB1*\*4+*IL7RA*\*T) ( $p=0.0027$ ), ассоциированное с оптимальным клиническим ответом на лечение ГА, при носительстве которого шансы эффективной терапии увеличены в 3.7 раза, и сочетание (*CCR5*\*d+*DRB1*\*15+*TGFB1*\*T+*IFNARI*\*G), ассоциированное с отсутствием оптимального ответа на лечение ( $p=0.00018$ ). Анализ природы кумулятивного эффекта между компонентами аллельных сочетаний, ассоциированных с эффективностью лечения каждым препаратом, выявил как аддитивный, так и эпистатический (нелинейный) типы взаимодействия между аллелями/генотипами. Анализ генных сетей с помощью ресурса GeneMania показал перекрывание биологических путей и прямое или опосредованное взаимодействие генов, входящих в исследуемые сочетания. Предложен новый сравнительный фармакогенетический подход для идентификации прогностических генетических маркеров, позволяющих сделать выбор одного из двух альтернативных препаратов. Показаны преимущества сравнительного анализа перед стандартным. Проведен пилотный анализ полногеномного изменения транскрипционного профиля в периферических мононуклеарных клетках больных РС под действием ИФНб после его первого применения, что позволило расширить представления о механизме действия препарата и выбрать новые гены-кандидаты для оптимизации поиска генетических маркеров. Исследование поддержано грантами КОМФИ РФФИ 13-04-40281-Н и 13-04-40279-Н.

**АНТИМИКРОБНЫЕ ПЕПТИДЫ РАСТЕНИЙ****Одинцова Т.И.\***, Коростылева Т.В., Истомина Е.А., Славохотова А.А.

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

\*e-mail: Odintsova2005@rambler.ru

Антимикробные пептиды (АМП) – важнейшие компоненты защитной системы растений. АМП ингибируют рост и развитие патогенных микроорганизмов, нарушая целостность мембран и/или взаимодействуя с внутриклеточными мишенями. АМП представляют значительный интерес для создания устойчивых к патогенам форм сельскохозяйственных растений методами генетической инженерии. Цель настоящей работы заключалась в анализе АМП и их генов у высоко устойчивых к патогенам культурных и дикорастущих видов растений. Ранее нами из семян пшеницы *T. kiharae* было выделено 50 новых АМП. Было установлено, что в семенах пшеницы присутствуют практически все известные семейства АМП растений. Кроме того, были обнаружены новые структурные типы АМП, не относящиеся к известным семействам. Среди них – новое подсемейство гевиноподобных пептидов WAMP. Установлена структура предшественников, кодирующих эти пептиды. Гены-гомологи пептидов WAMP обнаружены у ряда растений родов *Triticum* и *Aegilops*, а также у *Oryza sativa*, *Hordeum vulgare*, *Secale cereale*, *Leymus arenarius* и *Avena agadiriana*. Выявленные гомологи кодируют близкородственные предшественники, которые различаются по положению 34 в полипептидной цепи зрелого пептида. Показано, что пептиды WAMP являются специфическими ингибиторами секретируемых протеиназ грибов рода *Fusarium*, и ингибирующая способность зависит от аминокислоты в этом положении. Продемонстрировано усиление экспрессии генов WAMP при заражении патогенами и участие салицилатного сигнального пути в этом процессе. В пшенице обнаружено также новое семейство харпининов и установлена мультидоменная структура предшественников этих пептидов. Из семян сорного растения *Stellaria media* выделен и охарактеризован ряд АМП. Среди них два дефензина, обладающие высокой ингибирующей активностью в отношении важнейших фитопатогенов. Клонированы их гены и установлена структура предшественников. Получены трансгенные растения табака, экспрессирующие ген дефензина мокрицы. Из семян мокрицы также выделен и очищен новый антимикробный пептид, относящийся к семейству харпининов. Показано, что N- и C- концевые области его молекулы важны для биологической активности. Установлено, что пептид мокрицы синтезируется в виде предшественника, кодирующего 12 гомологичных пептидов. С использованием глубокого параллельного секвенирования транскриптомов на секвенаторе нового поколения Illumina HiSeq2000 исследованы транскрипты АМП-подобных генов, экспрессирующиеся в проростках *L. arenarius*. Гены АМП исследованных видов растений являются перспективными кандидатами для трансформации растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (№ 12-04-0017) и Программы Президиума РАН «Живая природа».

**ТЕХНОЛОГИЯ УЛЬТРАМУЛЬТИПЛЕКСОВ AMPLISEQ ДЛЯ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ****Плугов А.Г.**, Волков И.А.

Отдел научно-методической поддержки ООО «Агентство Химэксперт» (Москва), Россия

\*e-mail: alexander.plugov@khimexpert.ru

Высокопроизводительное секвенирование в сравнительно короткие сроки позволяет получать значительные массивы пер-

вичной генетической информации. В период «первоначального накопления капитала» знаний бывает важно сфокусировать исследования на ограниченном количестве мишеней. Технология мультиплексирования AmpliSeq это новый шаг для массового скрининга по большому количеству мишеней. Панели AmpliSeq применимы для секвенирования небольших инделов (до 50 п.о.) и SNP, групп генов, молекул РНК; существует панель для секвенирования экзона человека. Он-лайн ресурс Ion AmpliSeq Designer (ampliseq.com) позволяет в короткие сроки сформировать исследовательскую панель, представляющую собой мультиплексный пул праймеров. При подготовке к проведению тематической школы по методам молекулярной биологии в спортивной генетике Отделом научно-методической поддержки компании Химэксперт была сформирована панель на 49 маркеров предрасположенности к занятиям разными видами спорта. В панель вошли описанные в опубликованных исследованиях SNP (маркеры спортивного травматизма *COL1A1* rs1800012, *MMP3* rs679620, *APOE* rs7412..., маркеры быстроты и силы *HIF1A* rs11549465, *PPARG* rs1801282..., развития выносливости и устойчивости к гипоксии в условиях высокогорья *AMPD1* rs17602729... и др.). Протяженность анализируемых локусов составила 12,65 т.п.о., все локусы перекрывались 47 ампликонами. Размер панели позволяет проводить тестирование по генетическим маркерам до 96 человек за 1 запуск прибора Ion PGM™ на чипе начальной производительности.

**ПОЛНОЭКЗОМНОЕ NGS СЕКВЕНИРОВАНИЕ В ВЫЯВЛЕНИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ РИСКА БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА****Сломинский П.А.\*<sup>1</sup>**, Шульская М.В.<sup>1</sup>, Шадрин М.И.<sup>1</sup>, Иллариошкин С.Н.<sup>2</sup>, Пчелина С.Н.<sup>3</sup><sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН (Москва), Россия;<sup>2</sup>ФГБУН Научный центр неврологии РАМН (Москва), Россия;<sup>3</sup>ФГБУ «ПНЦ» (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: slomin@img.ras.ru

Болезнь Паркинсона (БП) – одно из наиболее тяжелых и распространенных нейродегенеративных заболеваний человека. В настоящее время описано более 20 локусов, связанных с данным заболеванием, но, тем не менее, даже при семейной форме болезни Паркинсона не удается провести его полный генетический анализ. Один из возможных подходов к поиску новых кандидатных генов заболевания – полногеномное или полноэкзомное секвенирование генома пациентов с семейной формой заболевания. В данной работе было проведено полноэкзомное секвенирование на платформе Illumina HiSeq 2500 пациентов из семей с вероятной аутосомно-доминантной формой наследования заболевания и пациентов с ранним (до 35 лет) возрастом клинического дебюта. Выборка была сформирована с учетом данных анализа наиболее частых вызывающих болезнь Паркинсона мутаций в генах паркина, дардарина, альфа-синуклеина, белка PINK1, глюкоцереброзидазы с использованием технологий MPLA и ПЦР в реальном времени и пациенты с выявленными мутациями были исключены из дальнейшего анализа. При этом показано, что высокую частоту в проанализированной выборке имеют мутации с изменением копийности экзона 3 и 4 гена PARK2 и мутация G2019S в гене LRRK. При проведении полноэкзомного секвенирования и биоинформатическом анализе полученных данных с использованием пакета программ SVS выявлены новые ранее не описанные редкие мутации в известных генах семейной формы заболевания (PARK2, LRRK) и обнаружены новые кандидатные гены, связанные с процессами везикулярного транспорта.

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФУНКЦИЙ ГЕНОВ У РАСТЕНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДЕТАЛИЗИРОВАННЫХ ЭКСПРЕССИОННЫХ КАРТ

Пенин А.А.\*, Клепикова А.В., Демиденко Н.В., Логачева М.Д.  
Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (Москва), Россия

\*e-mail: alekseypenin@gmail.com

Полученные в последние годы данные о геномах и транскриптомах многих видов растений существенно меняют наше понимание функционирования генетических сетей, контролирующих их развитие и жизнедеятельность. Однако несмотря на это функция большей части генов до сих пор не охарактеризована. Так, у *Arabidopsis thaliana* - модельного объекта генетики растений даже в системе автоматической аннотации Gene Ontology более чем для трети генов не установлена принадлежность к конкретному биологическому процессу или молекулярная функция. При этом для большей части оставшихся генов известны только общие коды классификации, не дающие представления о роли гена в процессе. Таким образом, определение функций генов и соотнесение их с конкретными биологическими процессами является одной из важнейших задач современной генетики. Одним из возможных путей, позволяющих определить функции таких генов, является анализ детализированных транскриптомных карт разных видов и их сравнение. В частности, это позволяет выявлять критические этапы морфогенеза, при которых происходит переключение программ развития и гены, участвующие в этих процессах; определять различные процессы в растении, контролируемые сходными участками генетической сети; находить гены, участвующие в консервативных путях регуляции и т.д. В настоящее время одним из центральных методов для создания транскриптомных карт является анализ экспрессии с использованием методов высокопроизводительного секвенирования (RNA-seq). В докладе будут представлены данные по анализу транскриптомных карт (включающих ряд стадий развития и реакции ответа на стрессовые воздействия), полученных нами с использованием технологии RNA-seq для классического модельного объекта генетики растений *Arabidopsis thaliana* и *Fagopyrum esculentum* (гречихи посевной). В частности, будут представлены результаты анализа процессов инициации цветения, развития листа, развития семян; будет показана связь между генами, контролирующими морфогенез и генами, участвующими в ответе на стрессовые воздействия; на примере анализа ответа на воздействие холодом в разных частях растения будет продемонстрирована процедура поиска генов входящих в ядра генетических сетей регуляции; на примере сравнительного анализа ответа на стресс у двух видов будет показана возможность поиска консервативных путей регуляции. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 12-04-33032 мол\_а\_вед.

## РЕГУЛЯТОРНАЯ СЕТЬ БИОСИНТЕЗА ФЛАВОНОИДОВ ПШЕНИЦЫ

Хлесткина Е.К.\*, Шоева О.Ю., Гордеева Е.И.  
ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия

\*e-mail: khlest@bionet.nsc.ru

Флавоноиды – вторичные метаболиты растений фенольной природы. Отличаются большим разнообразием (известно около 6500 флавоноидных структур) и несут существенную функциональную нагрузку (участвуют в процессах дыхания и онтогенеза, играют важную роль в окислительно-восстановительных и защитных реакциях, защищают растительные ткани от избыточной солнечной радиации, влияют на проницаемость мембран, могут выполнять роль сигнальных молекул и т. д.). Био-

синтез флавоноидов определяется двумя основными группами генов: структурными (кодируют ферменты, непосредственно участвующие в биосинтезе) и регуляторными. Изучение регуляторной сети биосинтеза флавоноидов гексаплоидной пшеницы *Triticum aestivum* L. ( $2n = 6x = 42$ ) осуществляется, как и для большинства немодельных объектов с большим геномом, методами прямой генетики: от признака к гену. В наших предыдущих работах в геноме пшеницы было картировано более 20 локусов, контролирующих окраску различных органов пшеницы, и показана их роль в качестве регуляторных генов биосинтеза флавоноидных пигментов антоцианов и флорафенов. При этом для доказательства регуляторной роли использовались генетические модели – отличающиеся по окраске почти изогенные, рекомбинантные и интрогрессивные линии пшеницы, из различных органов которых выделялась РНК, и проводилось сравнение экспрессии структурных генов биосинтеза флавоноидов. Эти работы позволили вплотную подойти к выделению нуклеотидных последовательностей регуляторных генов биосинтеза флавоноидов пшеницы. К данному моменту из генома пшеницы выделены гены, относящиеся к двум семействам регуляторных факторов транскрипции растений (MYC и MYB). Характерной особенностью пшеницы является наличие в ее геноме большого количества паралогичных и ортологичных (гомеологичных) копий данных генов. Гены семейства MYC (5 генов – для сравнения, в геноме риса данный ген присутствует в одном экземпляре) локализуются в хромосомах второй гомеологической группы, MYB (точное количество устанавливается) – в хромосомах седьмой группы. На данный момент установлена роль отдельных копий гена MYC в специфичной регуляции биосинтеза в определенных тканях. С помощью вновь созданных генетических моделей, несущих различные комбинации генов MYC и MYB, выявлены особенности регуляции на разных этапах биосинтеза антоцианов и в разных тканях. Сравнение с литературными данными по другим видам растений (кукуруза, петуния, арабидопсис, львиный зев, ячмень) указывают, что выявленные нами особенности регуляторной сети биосинтеза флавоноидов пшеницы, в частности, критическая роль активации транскрипции структурного гена *F3h* для продукции антоцианов, являются специфическими характеристиками изучаемого нами объекта.

Работа выполняется при поддержке грантов РФФИ (14-04-31637\_мол\_а), Президента РФ (МД-2615.2013.4), Программы РАН «Молекулярная и клеточная биология» (6.24).

## ПРОТЕОМНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ОТВЕТА БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТОК НА ВОЗДЕЙСТВИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ

Мещерякова И.А., Демидова Е.В., Горячкова Т.Н.,  
Розанов А.С., Семенов А.И., Демидов Е.А., Попик В.М.,  
Пельтек С.Е.\*

ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия

\*e-mail: peltek@bionet.nsc.ru

В последнее время терагерцовое излучение все шире применяется в научных исследованиях и практике. С вхождением в эпоху интенсивного научно-технического прогресса люди повсеместно начали использовать неионизирующее электромагнитное излучение – в частности и терагерцовое. Из-за малой энергии кванта терагерцовое излучение является неионизирующим и перспективным в таких областях, как разработка систем безопасности или новых диагностических систем в медицине. Терагерцовому диапазону соответствуют область вращательных спектров молекул, колебаний биологически важных коллективных мод ДНК и белков, а также область колебаний и энергий водородных связей



и вандерваальсовых сил, определяющих вторичную, третичную и структуры высшего порядка важнейших биополимеров. Поэтому необходимо исследовать последствия воздействия этого излучения на живые объекты, учитывая низкую вероятность контакта с ним живых объектов в естественных условиях обитания из-за практически полного поглощения терагерцового излучения в атмосфере и водных средах. Соответственно, трудно ожидать эволюционно закрепленных механизмов защиты от него. Методом двумерного электрофореза в ПААГ проведен сравнительный анализ протеомных профилей экспрессии генов *E. coli* под действием хорошо изученных стрессовых факторов и терагерцового излучения. В качестве модельного объекта для изучения реакции клеток *E. coli* на стрессовое воздействие использовали искусственно созданные геносенсорные конструкции, несущие промоторные области генов *katG* и *sorA* участвующих в контроле уровня перекиси водорода и ионов меди в клетках *E. coli* и репортерный GFP-белок. Показано наличие у клеток *E. coli* четырех групп генов, экспрессия генов трех групп связана с конкретными стрессорирующими факторами (перекись водорода, ионы меди или облучение терагерцовым излучением), гены четвертой группы изменяли экспрессию под воздействием любого из вышеперечисленных факторов. Критически важным параметром является время отбора проб для анализа, его определяли по времени реакции геносенсора (времени наработки репортерного GFP-белка) на терагерцовое излучение и другие стрессовые факторы. Биоинформатическими методами построены генетические сети, описывающие фундаментальные механизмы нетермического воздействия терагерцового излучения на живые объекты.

### ПРОТЕОМНЫЙ СКРИНИНГ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ АМИЛОИДОВ

*Галкин А.П.*<sup>\*1,2</sup>, *Нижников А.А.*<sup>1,2</sup>, *Рыжова Т.А.*<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики РАН им. Н.И. Вавилова (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: apgalkin@mail.ru

Целый ряд нейродегенеративных заболеваний, таких как болезнь Альцгеймера, Паркинсона, прионные заболевания и т.д., связан с формированием в тканях головного мозга человека упорядоченных белковых полимеров – амилоидов. Эти заболевания объединяют под общим названием «амилоидозы», которые подразделяется на инфекционные (прионные) и неинфекционные. Нарушение белкового фолдинга и, как следствие, формирование цитотоксичных амилоидных фибрилл различных белков может провоцироваться, в частности, клеточным старением. В настоящее время амилоиды выявлены не только у человека, но и в других систематических группах, в том числе, у грибов-аскомицетов. Предполагается, что на сегодняшний день охарактеризована лишь небольшая доля от реально существующих патологических и конститутивных амилоидов. Идентификация каждого нового приона или неинфекционного амилоида крайне трудоемка и является заметным научным событием. Для дальнейшего прогресса в этом направлении необходимо создание универсального метода, учитывающего уникальные биохимические характеристики амилоидных полимеров, по которым они отличаются от прочих белковых комплексов. Мы разработали и успешно апробировали метод протеомного скрининга для идентификации патологических и функциональных амилоидов. Для разработки этого метода мы модифицировали предложенный ранее подход выделения и очистки фракции амилоидных полимеров за счет обработки белковых лизатов ионными детергентами, растворяющими все белковые агрегаты и комплексы за исключением

амилоидов. Дальнейшие этапы работы включают в себя сравнительный протеомный анализ опытных и контрольных образцов. В качестве опытного образца могут быть использованы клетки или ткани, которые предположительно содержат амилоиды (например, штаммы дрожжей, содержащие прионные детерминанты). Белки, формирующие детергент-устойчивые полимеры, из опытных и контрольных образцов метятся различными флуоресцентными красителями и разделяются с помощью двумерного гель-электрофореза. Сравнительный анализ позволяет выявлять белки, соответствующие белкам, формирующим амилоидные полимеры в опытных образцах. Такие белки идентифицируются с помощью масс-спектрометрии. С помощью разработанного нами подхода в дрожжевых клетках идентифицированы прионные изоформы белков Rnq1, Sup35, а также полимеры белка мыши PrP и амилоидного пептида бета человека. В настоящее время мы используем данный метод для идентификации не охарактеризованных ранее белков, формирующих в процессе старения нейротоксичные агрегаты в мозге человека.

### КИНЕТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПУТЕЙ В БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКЕ

*Акбердин И.Р.*<sup>\*</sup>, *Казанцев Ф.В.*, *Ермак Т.В.*,  
*Хлебодарова Т.М.*, *Лихошвай В.А.*

ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН  
(Новосибирск), Россия

\*e-mail: akberdin@bionet.nsc.ru

В настоящее время одним из основных «инструментов» системной биологии является метод математического моделирования. Математические модели позволяют естественным образом объединять в рамках единой концептуальной схемы экспериментальные данные, касающиеся закономерностей функционирования биологических систем на всех уровнях их организации. В свете существующих тенденций развития экспериментальных и теоретических подходов в системной биологии идея создания виртуальной «электронной клетки» не кажется не выполнимой. После того, как были обнаружены организмы с исключительно малым размером генома и появились модели «минимальной» клетки, в том числе и на основе более сложных организмов, идея создания полномасштабной «электронной клетки» начала воплощаться в жизнь. В настоящей работе мы рассматриваем современные достижения в разработке портретной математической модели функционирования живой клетки *in silico*, детально описывающей процессы внутриклеточного метаболизма и его генетической регуляции; существующие экспериментальные и теоретические проблемы при реконструкции и анализе модели «электронной клетки», а также приводим примеры разрабатываемых собственных подходов и технологий для решения этих проблем. В качестве примера применения оригинальных подходов и технологии генерации математических моделей будет приведен анализ кинетических моделей нескольких метаболических путей в бактериальной клетке, разработанных в группе математического моделирования молекулярно-генетических систем ИЦиГ СО РАН.

### ЭВОЛЮЦИОННОЕ ПРОИСХОЖДЕНИЕ ЭНДО-β-КСИЛАНАЗ ПЛАНКТОМИЦЕТОВ

*Наумов Д.Г.*

Институт микробиологии им. С.Н. Виноградского  
Российской академии наук (Москва), Россия

e-mail: daniil\_naumoff@yahoo.com

Гликозил-гидролазы (К.Ф. 3.2.1) – обширная группа ферментов, катализирующих гликолитическое расщепление O-глико-

зидной связи. На основе гомологии каталитических доменов все гликозил-гидролазы отнесены в базе данных CAZy к 133 семействам (GH1–GH133). На более высоком иерархическом уровне часть семейств объединена в кланы. Каталитические домены четырех кланов (GH-A, GH-D, GH-H и GH-K) имеют пространственную структуру в виде ТИМ-бочонка. К клану GH-A наряду с другими относится и семейство GH10, объединяющее по данным базы данных CAZy 1585 белков различного происхождения. Среди биохимически охарактеризованных представителей этого семейства обнаружены ферменты с двумя типами энзиматических активностей: эндо-1,4-β-ксилазазы (К.Ф. 3.2.1.8) и эндо-1,3-β-ксилазазы (К.Ф. 3.2.1.32). Проведенный нами скрининг базы данных NCBI с помощью 32 разных доменов семейства GH10 позволил выявить в ней 3672 белка, содержащих домены этого семейства (т.е. более чем удвоить ранее существовавший список). Парное сравнение этих доменов выявило исключительно большую роль горизонтальных переносов в процессе эволюции соответствующих генов. Белки планктомицетов – функционально мало исследованного отдела бактерий – легко могут быть разбиты на две четко обособленных группы на основании уровня сходства аминокислотных последовательностей. Одна из них включает строго по одному белку из каждого планктомицета, а вторая представлена лишь у некоторых организмов, но, как правило, в виде нескольких паралогов. Филогенетический анализ белков семейства GH10 подтвердил многочисленность горизонтальных переносов в процессе эволюции их генов в живых организмах самых разных таксонов. При этом белки планктомицетов первой группы образовали самостоятельный стабильный кластер на филогенетическом древе, строение которого хорошо согласуется с таксономической принадлежностью соответствующих бактерий (т.е. с филогенией генов 16S рРНК). Это свидетельствует о вертикальном наследовании соответствующих генов. Планктомицетные белки второй группы образуют общий кластер с белками из ряда других организмов, что указывает на появление их генов в результате целой серии горизонтальных переносов. Полученные результаты говорят в пользу того, что планктомицетные белки семейства GH10 из разных групп выполняют в организме различающиеся функции: белки первой группы строго необходимы для жизнедеятельности почти всех планктомицетов, в то время как потребность в белках второй группы возникает при обитании в определенных экологических нишах и, как правило, приводит к накоплению нескольких паралогов. В докладе будут обсуждаться вероятные источники горизонтальных переносов генов β-ксилазазы в планктомицеты.

#### СЕКВЕНИРОВАНИЕ И АНАЛИЗ ГЕНОМОВ БАКТЕРИЙ, ПРЕДСТАВЛЯЮЩИХ «НЕКУЛЬТИВИРУЕМЫЕ» ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЛИНИИ

*Гумеров В.М., Кадников В.В., Белецкий А.В., Ракитин А.Л., Ермакова А.Е., Марданов А.В.\**

*ФГБУН Центр «Биоинженерия» РАН (Москва), Россия*

\*e-mail: mardanov@biengi.ac.ru

Применение молекулярных методов в микробиологии показало, что большинство микроорганизмов в природных сообществах не могут быть культивированы в стандартных лабораторных условиях и остаются неизвестными классической микробиологии. Из примерно 50 известных таксонов высшего уровня (филумов) бактерий около половины не имеют культивируемых представителей и известны лишь по последовательностям генов 16S рРНК и/или отдельным фрагментам из метагеномных библиотек. Значительная часть этих «некультивируемых» филумов представляет микроорганизмы, обитающие в экстремальных экологических нишах. Расшифровка нуклеотидных

последовательностей геномов является основой их изучения. Мы просеквенировали геномы трех бактерий, представляющих два новых филума. Это термофильная факультативно анаэробная органотрофная бактерия *Melioribacter roseus*, выделенная коллективом Е.А. Бонч-Осмоловской (ИНМИ РАН); анализ 16S рРНК показал, что эта бактерия образует эволюционно древнюю ветвь в основании филума зеленых серных бактерий Chlorobi. Реконструкция метаболизма *M. roseus* на основе геномных данных выявила пути сбраживания органических субстратов, а также их полного окисления в процессах аэробного и анаэробного дыхания. Ферменты фотосинтетического и азотфиксирующего аппарата, имеющиеся у Chlorobi, и ключевые ферменты автотрофной фиксации CO<sub>2</sub>, не обнаружены. Результаты анализа генома *M. roseus* поддерживают выделение этой бактерии в новый филум Ignavibacteriae, который является первым шагом на пути эволюции от общего гетеротрофного предка Bacteroidetes/Chlorobi к анаэробным фотоавтотрофным Chlorobi. Два других микроорганизма – растущие на нерастворимом хитине галоалкалифильные бактерии, выделенные из содовых озер Д.Ю. Сорокиным (ИНМИ РАН). Анализ генов 16S рРНК этих микроорганизмов показал, что они относятся к кандидатному филуму TG3 (Termite Group 3), представители которого были ранее обнаружены молекулярными методами в кишечнике насекомых, но до настоящего времени не были получены в чистых культурах. Геномы этих двух штаммов, Aclt1 (названного *Chitinivibrio alkaliphilus*) и Aclt6-1, были нами просеквенированы. Результаты геномного анализа подтверждают правомерность выделения TG3 как отдельного бактериального филума, два порядка которого представлены охарактеризованными микроорганизмами. Реконструкция путей метаболизма исследованных бактерий выявила пути ферментации хитина и некоторых других полисахаридов в отсутствие систем аэробного и анаэробного дыхания. Среди мембран-связанных ионных помп идентифицированы Rnf комплекс, оксалоацетат декарбоксилаза и Na-транспортирующая АТФаза. Анализ геномов выявил механизмы адаптации к росту в условиях богатой органикой среды содового озера.

#### РАЗВИТИЕ ГЕНОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В БЕЛАРУСИ

*Кильчевский А.В.\*, Сычева Е.А.*

*ГНУ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси*

*(Минск), Республика Беларусь*

\*e-mail: A.Kilchevsky@igc.bas-net.by

Геномные исследования в Беларуси получили развитие благодаря реализации в 2002-2013 гг. ряда государственных биотехнологических программ. Одним из наиболее динамично развивающихся направлений стала медицинская геномика. Были разработаны методы ДНК-диагностики генетической предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям, венозным тромбозам, болезням органов дыхания, эндокринным заболеваниям (диабет 2 типа, ожирение), остеопорозу, ревматоидному артриту, нарушению нормального физиологического течения беременности. Развернута ДНК-диагностика наследственной тугоухости, митохондриальных патологий, гемохроматоза. Активизировались исследования по спортивной геномике. Разработаны методы тестирования по генам, влияющим на состояние опорно-двигательного аппарата, выносливость, скорость, силу, адаптацию к гипоксии, способность к восстановлению после физических нагрузок. Создан банк ДНК спортсменов 17 национальных команд Беларуси, протестированы олимпийская сборная команда по биатлону, национальные команды по хоккею, теннису, легкой атлетике. Определенные успехи достигнуты в области геномной инженерии и геномной селекции. Получены трансгенные растения картофеля с устойчивостью к

колорадскому жуку, вирусам, грибным и бактериальным болезням. Ведутся работы по созданию трансгенных клевера, клеювы, рапса, льна, голубики высокой, брусники обыкновенной и гиацинта восточного. Введен в эксплуатацию полигон для испытания трансгенных растений. В помощь селекционерам разработаны методы молекулярного маркирования по генам устойчивости картофеля к болезням; генам томата, детерминирующим лежкость плодов и измененное содержание каротиноидов, устойчивость к кладоспориозу и фузариозу. Подобраны ДНК-маркеры к генам устойчивости яблони к парше, мучнистой росе, красногалловой яблонной тле и бактериальному ожогу; генам-восстановителям фертильности у ржи и генам, определяющим хлебопекарные качества, короткостебельность и устойчивость к бурой ржавчине у пшеницы. Для животноводства разработаны методы ДНК-тестирования по генам устойчивости к иммунодефициту, пороку позвоночника, ранней абортности эмбрионов КРС; устойчивости к иммунодефициту и параличу лошадей; устойчивости к колибактериозу и стрессу свиней; откормочной и мясной продуктивности свиней; молочной продуктивности крупного рогатого скота. На основе молекулярных маркеров предложены системы ДНК-паспортизации сортов сельскохозяйственных культур (пшеница, ячмень, томаты, картофель, подсолнечник, груша, яблоня, лен, соя, сахарная свекла) и племенных животных (КРС, свиньи, лошади). Созданы эталонные генетические паспорта для 170 сортов растений. С использованием геномных технологий проведен анализ генетической структуры популяции беловежского зубра, ведется работа с популяциями благородного оленя и косули. Внедрение результатов геномных исследований в практику осуществляется на базе Республиканского центра геномных биотехнологий при Институте генетики и цитологии НАН Беларуси.

### С3-01. ПУТИ ЭВОЛЮЦИИ ГЕНОМОВ ЦИАНОБАКТЕРИЙ

**Шестаков С.В.** <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.И. Ломоносова (Москва), Россия

e-mail: shestakovgen@mail.ru

На основе анализа *in silico* полностью секвенированных геномов более 60 видов/штаммов цианобактерий рассмотрены пути эволюции геномов различных таксонов в рамках представлений о роли: (1) мутаций/дупликаций; (2) редукции геномов; (3) горизонтального переноса генов; (4) геномных перестроек. Геномы современных цианобактерий сформировались в результате сочетания этих трендов в разных соотношениях, что определило различия между таксонами по скоростям «протока генов» и степени генного и геномного полиморфизма. Для морских одноклеточных цианобактерий (*Synechococcus*, *Prochlorococcus*) с малыми размерами геномов (1.4 – 2.7 Мб) характерна редукционная эволюция с утратой мобильных элементов, но с проявлением высокой степени генного полиморфизма. Возможности горизонтального обмена генами (систем фотосинтеза, азотного метаболизма и др.) обеспечиваются цианофагами, играющими важную роль в контроле численности цианобактерий, в поддержании и обновлении генного пула в популяциях. Геномы цианобактерий и цианофагов коэволюционируют. Альтернативный сценарий реализован в эволюции морской цианобактерии *Acaryochloris marina* с большим геномом (8.36 Мб): при низком уровне генного полиморфизма основой изменчивости являются геномные перестройки при участии большого набора транспозаз. По сходному пути происходила эволюция геномов пресноводных цианобактерий *Microcystis* с высоким содержанием IS- и MITE-элементов. Как показало полногеномное

секвенирование ДНК штаммов *Anabaena* из географически далеких регионов экологическая штаммоспецифичность связана не с различиями в геномном составе или в полиморфизме генов, а обусловлена геномными перестройками, влияющими на экспрессию генов. Составлены сводные таблицы генов цианобактерий, вовлеченных в близкородственные горизонтальные переносы: наибольшую долю составляют гены сигнальных и транспортных систем, обеспечивающих быструю адаптацию в процессах микроэволюции. Обобщены сведения о судьбе паралогичных генов в эволюции цианобактерий: увеличение дозы генов (на примере светозащитных систем), процессы суб- и неофункционализации, увеличивающие адаптивный потенциал клеток и расширяющие диапазон экологической диверсификации. Рассмотрены геномные преобразования у симбиотических цианобактерий, реализуемые путем геномной редукции (*Rhaphidiopsis brokii*) или в результате приобретения новых генов и экспансии генных семейств. Работа выполнена по гранту программы РАН «Проблемы происхождения жизни и становление биосферы».

### С3-02. ГЕНЕТИКА ГОМЕОСТАЗА ЖЕЛЕЗА У ЦИАНОБАКТЕРИИ *SYNECHOCYSTIS* SP. PCC 6803

**Бабькин М.М.** <sup>\*1</sup>; **Обандо Т.** <sup>2</sup>; **Зинченко В.В.** <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Международный учебно-научный биотехнологический центр МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва), Россия;

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра генетики (Москва), Россия

\*e-mail: babykin@mail.ru

Железо необходимо для жизнедеятельности всех организмов, особенно фотосинтезирующих, таких как растения и цианобактерии. Несмотря на изобилие данного элемента в биосфере, его биологическая доступность существенно ограничена в кислородсодержащей среде, поэтому аэробные организмы используют высоко аффинные системы его транспорта и запасаения. Необычайно эффективный механизм усвоения железа в низких концентрациях основан на секреции и поглощении клетками его биологических хелаторов, сидерофоров, продуцируемых в экосистемах бактериями, грибами и растениями. Поскольку не только недостаток, но и избыток железа являются стрессовыми факторами, гомеостаз этого элемента подвержен строгой регуляции. Известным глобальным регулятором гомеостаза железа у бактерий служит ген *fur*, который в присутствии железа негативно регулирует экспрессию многих генов, в том числе генов транспортеров железа. У одноклеточной цианобактерии *Synechocystis* sp. PCC 6803, модельного объекта молекулярной генетики оксигенного фотосинтеза, гомеостаз железа остается малоизученным. Согласно данным биоинформатического анализа, у *Synechocystis* в этот процесс вовлечено более 30 генов и только для 16 из них экспериментально показано участие в контроле транспорта, хранения и детоксикации свободного железа. Остальные 14 генов кодируют компоненты предполагаемых систем транспорта сидерофоров; однако, детерминанты синтеза таких соединений у *Synechocystis* не обнаружены. Эти гены сгруппированы в один кластер с 3 генами транскрипционных факторов семейства AgaC, которые могут играть роль регуляторов гомеостаза железа наряду с ортологом гена *fur*, жизненно важным и поэтому практически неизученным у *Synechocystis*. Нами установлено, что в присутствии железа регуляторные гены кластера позитивно модулируют экспрессию генов предполагаемых транспортеров сидерофоров, а также гена стрессового ответа *isiA*. Впервые экспериментально показано, что клетки *Synechocystis* способны усваивать чужеродные сидерофоры; при этом ключевую роль играет один из структурных



генов кластера – *tonB*. С использованием разработанной нами векторной системы, позволяющей осуществлять манипуляции с жизненно важными генами, сконструирован условно летальный мутант *Synechocystis* с инактивированным геном *fur*. При изучении этого мутанта выявлен глобальный характер негативной регуляции геном *fur* светозависимого синтеза хлорофилла, а также экспрессии генов систем транспорта сидерофоров, систем транспорта свободного двухвалентного и трехвалентного железа и гена стрессового ответа клеток *isiA*.

### С3-03. МОДЕЛЬ ОБРАЗОВАНИЯ GC-БОГАТЫХ ИЗОХОР В ПРОЦЕССЕ СТАНОВЛЕНИЯ ГЕНОМОВ ТЕПЛОКРОВНЫХ ПОЗВОНОЧНЫХ

**Сизова Т.В.**

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

e-mail: olonare@mail.ru

Изохоры - протяженные, достаточно гомогенные по GC-составу участки хромосом, тесно связанные с рядом основных биологических свойств. Геномы холоднокровных позвоночных состоят из двух семейств изохор. Геномы теплокровных позвоночных включают в себя от четырех до шести семейств изохор. Показано, что при происхождении позвоночных животных GC-богатые изохоры возникли в результате увеличения состава оснований более GC-богатой изохоры холоднокровного предка. Молекулы ДНК гомологичных хромосом на стадии профазы I деления мейоза организованы в фибриллы хроматина, которые в виде петель прикреплены к боковым элементам синаптонемного комплекса. СКАР ДНК - семейство последовательностей геномной ДНК, лежащих в основаниях петель, обладающих рядом специфических свойств и обогащенных консервативными последовательностями. Определена плотность распределения последовательностей СКАР ДНК в разных изохорных компартаментах геномов золотистого хомячка, цыпленка и человека. Сделан вывод о том, что в разных изохорных компартаментах исследованных геномов длины петлей ДНК, прикрепляющихся к СК, различны и изменяются сходным образом. Оценено количество генов в петлях ДНК. Предложена модель образования GC-богатых изохор в процессе становления геномов теплокровных позвоночных, согласно которой происходило не только увеличение GC-состава, но и сокращение длин некодирующих и не значимых функционально участков ДНК, а также хромосомные перестройки, приводящие к объединению сокращающихся изохор.

### С3-04. ИДЕНТИФИКАЦИЯ НОВОГО АЛЛЕЛЯ ГЕНА *DNA TOPOISOMERASE I ALPHA (TOP1) ARABIDOPSIS THALIANA* И АНАЛИЗ ФУНКЦИИ ЭТОГО ГЕНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА RNA-SEQ

**Альберт Е.В.**\*, **Клепикова А.В.**, **Демиденко Н.В.**, **Ежова Т.А.**, **Логачева М.Д.**, **Пенин А.А.**

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (Москва), Россия*

\*e-mail: eugenealbert2010@gmail.com

Одной из основных характеристик растений является наличие открытого роста. Он обеспечивается существованием меристем, в том числе - меристемы соцветия. В настоящее время идентифицированы десятки генов, контролирующих ее развитие. Несмотря на это, роль ряда генов в этом процессе и механизмы их действия не достаточно ясны. Мутантная линия *fasciata4 (fas4) Arabidopsis thaliana* из коллекции кафедры генетики МГУ характеризуется увеличением меристемы соцветия,

фасциацией стебля и нарушением филлотаксиса, что позволяет предполагать, что в растениях дикого типа ген негативно регулирует пролиферативную активность апикальной меристемы. Для выявления гена проведено картирование мутации. Для этого из популяции F<sub>2</sub> от скрещивания мутанта *fas4* с линией дикого типа Columbia были собраны пулы растений дикого и мутантного фенотипа, содержащие по 25 растений. ДНК пулов было секвенировано с использованием платформы Illumina HiSeq 2000. Полученные данные обработаны с использованием программы SNPtrack, что позволило локализовать ген в районе 22-23 МБ 5 хромосомы. В этом районе расположен ген *TOP1 (At5g55300)*, мутанты по которому имеют сходный фенотип с *fas4*. У растений *fas4* в этом гене в конце 9 экзона находится стоп-кодон, приводящий к потере С-концевого домена фермента. Для уточнения роли гена *TOP1* в регуляции меристематической активности методом RNA-seq был проведен анализ изменения экспрессии генов в апексах соцветий у мутанта *fas4* по сравнению с диким типом. Анализ проводили на пулах из 15 апексов собранных на стадии начала выметывания цветоноса в 2 повторностях для каждого генотипа (секвенирование - HiSeq 2000, ~25 млн чтений на образец, длина чтения 50 нп; картирование на референс - CLC Genomics Workbench, определение дифференциально экспрессирующихся генов – пакет DEseq). В результате было выявлено 1038 дифференциально экспрессирующихся генов, среди которых нет известных генов, поддерживающих апикальную меристему побега. Анализ этих генов с использованием пакета Pathway Studio 9.0 позволил выявить вовлеченность гена *TOP1* в пути синтеза абсцизовой кислоты и ауксина. Нарушение функционирования этих путей может приводить к наблюдаемому фенотипу мутанта. Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-00122.

### С3-05. ИЗУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧНОСТИ СВЯЗЫВАНИЯ ХРОМАТИНА РЕМОДЕЛИРУЮЩЕГО КОМПЛЕКСА SWI/SNF С ДНК

**Коровкина А.В.**\*, **Клепикова А.В.**, **Логачева М.Д.**, **Пенин А.А.**

*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (Москва), Россия*

\*e-mail: alinakorovkina@gmail.com

Анализ функций отдельных генов является важным этапом на пути понимания структуры генетической сети, контролирующей развитие организма. В большинстве случаев основой такого анализа служит сравнение дикого типа с мутантом по изучаемому гену. Мутант *bractea (bra)* модельного объекта *A. thaliana* характеризуется комплексным нарушением развития ряда морфологических признаков, а также изменением динамики роста. Ранее было показано, что фенотип *bra* вызывает мутация, приводящая к появлению стоп-кодона в гене *CHB3 (AT4G34430)*, кодирующий один из ДНК-связывающих белков комплекса ремоделирования хроматина SWI/SNF. Этот комплекс регулирует экспрессию генов, изменяя доступность хроматина для белков, участвующих в процессах транскрипции. Для проверки специфичности связывания комплекса SWI/SNF был проведен анализ экспрессии генов в верхушках соцветий дикого типа и мутанта *bra* методом RNA-seq. На основе полученных данных был проведен анализ плотности распределения дифференциально экспрессирующихся генов на хромосомах для выявления регионов с повышенным изменением генной экспрессии. Анализ плотности распределения дифференциально экспрессирующихся генов на хромосомах показал наличие шести участков, общей длиной 290 т.н.п., в которых достоверно повышена доля дифференциально экспрессирующихся генов. Из этого можно сделать вывод о том, что субъединица CHB3 отвечает за специфичность связывания комплекса SWI/SNF с

ДНК. Также в докладе будет представлен анализ тканевой специфичности в распределении участков с повышенной долей дифференциально экспрессирующихся генов у мутанта *bra*. Помимо этого будут представлены результаты анализа тканевой специфичности разных субъединиц комплекса, проведенного на основе транскриптомной карты *Arabidopsis thaliana*. Работа поддержана грантом РФФИ № 12-04-01599-а.

### С3-06. ГЛЮКАНОЗИЛТРАНСФЕРАЗА GAS1 – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ КОНСТИТУТИВНЫЙ АМИЛОИД ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

*Рыжова Т.А.<sup>1</sup>, Нижников А.А.<sup>1,2</sup>, Галкин А.П.<sup>\*1,2</sup>*

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики РАН им. Н.И. Вавилова (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: apgalkin@mail.ru

Амилоиды представляют собой белковые полимеры, которые формируются за счет образования упорядоченных межмолекулярных бета-складчатых структур. Болезни, связанные с образованием патологических амилоидных агрегатов, принято называть «амилоидозами». К числу наиболее распространенных и, следовательно, социально значимых амилоидозов относятся болезни Хантингтина, Альцгеймера и Паркинсона, а также прионные заболевания. Вопросы о том, насколько широко представлены амилоиды у эукариот, и какова их биологическая значимость, по-прежнему, остаются открытыми. Работы последних лет свидетельствуют о том, что некоторые амилоиды могут выполнять жизненно-важные функции. Это относится, в частности, к амилоидам бактерий, формирующим биопленки, функциональному амилоиду млекопитающих PMEL и белку клеточной стенки дрожжей Bgl2. Есть основания полагать, что на сегодняшний день охарактеризована лишь небольшая доля от реально существующих патологических и конститутивных амилоидов. Мы разработали и успешно апробировали универсальный метод протеомного скрининга и идентификации амилоидов, основанный на их необычно высокой устойчивости к ионным детергентам, что является универсальной характеристикой амилоидных полимеров. Метод заключается в выделении фракции детергент-устойчивых белковых полимеров, разделении флуоресцентно-меченых белков при помощи двумерного гель-электрофореза и их масс-спектрометрической идентификации. Помимо белков Sup35 и Rnq1, формирующих в дрожжевых клетках инфекционные амилоидные агрегаты (прионы), мы выделили и идентифицировали детергент-устойчивые полимеры, образованные белком Gas1. Белок Gas1 (1,3-глюканозилтрансфераза) участвует в образовании клеточной стенки и играет роль в регуляции транскрипционного сайленсинга. Интересно отметить, что Bgl2 (1,3-глюканаза) – другой основной белок клеточной стенки *S. cerevisiae* – способен формировать фибриллярные структуры амилоидного типа. Мы показали, что полимеры белка Gas1 устойчивы к обработке 3% саркозинатом натрия и 1% додецилсульфатом натрия. В этих условиях растворяются все другие белковые комплексы и полимеры, за исключением амилоидов. Химерный белок Gas1-GFP выявляется в дрожжевой клетке в виде флуоресцирующих агрегатов. В ходе дальнейшей работы предполагается проведение анализа локализации агрегатов Gas1-YFP со специфическим флуоресцентным зондом на амилоидные фибриллы “tioflavin-T” *in vivo*, и исследована динамика формирования фибрилл Gas1 *in vitro*. В целом, полученные нами предварительные данные свидетельствуют, что белок Gas1 является новым конститутивным амилоидом дрожжей *S. cerevisiae*.

### С3-07. ПРИОНИЗАЦИЯ БЕЛКА SFP1 РЕГУЛИРУЕТ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА SUP45 У ДРОЖЖЕЙ

*Дроздова П.Б.\**, Липаева П.В., Рогоза Т.М., Радченко Э.А., Миронова Л.Н.

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

\*e-mail: drozdovapb@gmail.com

У дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* известно не менее 10 прионов – белков, способных к конформационному переходу при участии другой молекулы того же белка, и последующей сборке в агрегаты. Одним из таких прионов является [ISP<sup>+</sup>]. Этот детерминант обнаружен при изучении мутантов по гену SUP35 (eRF3). Такие клетки способны супрессировать нонсенс-мутации, что фенотипически проявляется как рост на селективной среде. При появлении в штамме приона [ISP<sup>+</sup>] рост на селективной среде прекращается, что говорит о повышении эффективности терминации трансляции. [ISP<sup>+</sup>] формируется белком Sfp1, транскрипционным фактором, активирующим гены биогенеза рибосом и рибосомных белков, однако прионизация Sfp1p не изменяет экспрессию этих генов. Влияние белка Sfp1 на терминацию трансляции может быть опосредовано изменением активности факторов терминации Sup35 (eRF3) и Sup45 (eRF1). Ранее при секвенировании геномной копии SUP45 в штаммах, в которых прион [ISP<sup>+</sup>] спонтанно возникает и стабильно поддерживается, обнаружена миссенс-мутация *sup45-400*. Введение в клетки дополнительной копии SUP45 дикого типа, но не аллели *sup45-400*, приводило к супрессорному фенотипу, т. е. маскировке проявления [ISP<sup>+</sup>]. Количество белка Sup45 в штамме [ISP<sup>+</sup>] снижено по сравнению со штаммом [*isp*<sup>-</sup>]; делеция SFP1 вызывает даже более значительное снижение уровня Sup45p. Sfp1p является транскрипционным фактором, что позволяет предположить прямую транскрипционную регуляцию гена SUP45. Компьютерный анализ показал, что промоторная область гена SUP45 содержит последовательность, схожую (92.6%) с предсказанным сайтом связывания Sfp1p. Для проверки гипотезы о транскрипционной регуляции гена SUP45 белком Sfp1 создана плазмидная конструкция, несущая SUP45 под контролем промотора, в котором предполагаемый сайт связывания Sfp1p заменен другой последовательностью. Замена SUP45 дикого типа на SUP45 под контролем мутагенизированного промотора в штаммах дикого типа, не несущих прион, не вызывает нонсенс-супрессии. При сверхэкспрессии гена SFP1 в этих штаммах изменения уровня Sup45 не зарегистрировано. Таким образом, наличие связи между белком Sfp1 и фактором терминации трансляции Sup45 очевидно, но не объясняется прямой транскрипционной регуляцией. Поиск других механизмов является задачей нашей текущей работы. Секвенирование плазмид осуществляли сотрудники Центрального центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий». Работа поддержана грантами НШ-5345.2012.4, РФФИ 11-04-00146а, МК-165.2012.4, НИР из средств СПбГУ 0.37.696.2013.

### С3-08. ВЛИЯНИЕ НОНСЕНС-МУТАЦИЙ В ГЕНЕ SUP35 НА СВОЙСТВА ПРИОНА [PSI<sup>+</sup>] ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

*Трубицина Н.П.\**, Бондарев С.А., Журавлева Г.А.

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

\*e-mail: studentka\_tnp@mail.ru

Факторы терминации трансляции eRF1 (Sup45p) и eRF3 (Sup35p) в клетках дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* кодируются жизненно-важными генами SUP45 и SUP35, соответственно. Прионизация Sup35p, то есть накопление его в клетке в виде

нерастворимых амилоидных агрегатов, приводит к возникновению фактора  $[PSI^+]$ . Эффективность процесса терминации трансляции при этом снижается, что способствует нонсенс-супрессии. Данная работа посвящена анализу эффекта нонсенс-мутаций в гене *SUP35* (*sup35-n*) на поддержание приона  $[PSI^+]$  в диплоидных клетках дрожжей. Изучаемые мутации приводят к появлению укороченных фрагментов Sup35p наряду с полно-размерным и обладают носенс-супрессорным фенотипом. Поскольку ранее была показана синтетическая летальность нонсенс-мутаций в гене *SUP45* (*sup45-n*) при сочетании с прионом  $[PSI^+]$ , мы ожидали аналогичных эффектов и для *sup35-n*. Для подтверждения этой гипотезы мы провели серию скрещиваний между  $[PSI^+]$  штаммами с геном *SUP35* дикого типа и  $[psi^-]$  штаммами с мутантными аллелями *sup35-21*, *sup35-74*, *sup35-218*, *sup35-240*. Во всех случаях были получены жизнеспособные диплоидные клетки. Поскольку отсутствие синтетической летальности могло быть связано с сохранением аллели *SUP35*, мы проанализировали частоты неселективной потери плазмид у диплоидов. Для штаммов с аллелями *sup35-74*, *sup35-240* мы показали статистически достоверное увеличение частоты потери плазмиды с *sup35-n*, что позволило нам предположить наличие синтетической летальности. Для оценки размера агрегатов в присутствии мутантных аллелей мы проводили полуденатурирующий электрофорез агрегатов Sup35p в агарозном геле. В случае *sup35-240* агрегаты Sup35p отсутствовали, что говорит о потере приона  $[PSI^+]$ . При *sup35-74*, *sup35-218* размер агрегатов был увеличен, а при *sup35-21* не отличался от дикого типа. Для проверки потери приона, мы заменили мутантные аллели на ген *SUP35* у диплоидов. В штамме с *sup35-240*, как и ожидалось, прион  $[PSI^+]$  отсутствовал. В случае *sup35-74*, *sup35-218* нонсенс-супрессорный фенотип слабо проявлялся, что говорит о сохранении приона. Таким образом, мы пришли к выводу, что присутствие аллели *sup35-240* ведет к потере фактора  $[PSI^+]$ , а аллели *sup35-74* и *sup35-218* способствуют формированию более слабого варианта приона.

Работа получила финансовую поддержку Российского фонда фундаментальных исследований (13-04-0064) и программы Президиума Российской академии наук «Происхождение и эволюция гео-биологических систем», НИР СПбГУ (0.37.696.2013, 1.37.113.2011, 1.50.2218.2013), а также ресурсного центра «Развития молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.

### СЗ-09. АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ ВАРИАНТЫ ЭКСПРЕССИИ ЖИЗНЕННО ВАЖНОГО ГЕНА *SUP35* ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

**Борхсениус А.С.**<sup>\* 1, 2</sup>, **Рябинкина Н.А.**<sup>1</sup>, **Шумега А.Р.**<sup>1</sup>, **Сопова Ю.В.**<sup>1, 2</sup>, **Инге-Вечтомов С.Г.**<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup> СПб филиал ФГБУН Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: aborchsenius@yahoo.com

Жизненно важный ген *SUP35* дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* кодирует фактор терминации трансляции eRF3. Открытая рамка считывания этого гена содержит три кодона АТГ (АТГ<sub>1</sub>, АТГ<sub>124</sub> и АТГ<sub>254</sub>). Ранее было выявлено два транскрипта *SUP35*: основной, соответствующий полноразмерной рамке считывания, и минорный, соответствующий необходимому и достаточному для жизнеспособности 3'-концевому участку *SUP35*, начинающемуся с третьего кодона АТГ (АТГ<sub>254</sub>). Однако функциональная роль минорного транскрипта *SUP35*, так же как и существование укороченных вариантов белка Sup35, синтезируемых с кодонов АУГ<sub>124</sub> или АУГ<sub>254</sub>, к настоящему времени не были показаны. Подходом к решению вопроса, происходит ли

альтернативная трансляция мРНК *SUP35* с кодонов АУГ<sub>124</sub> или АУГ<sub>254</sub>, может быть оценка жизнеспособности клеток дрожжей при инактивации стартового кодона АТГ<sub>1</sub> гена *SUP35*. В ходе работы мы использовали неизогенные гаплоидные штаммы дрожжей 19А-Д780, 8-7А-Д832 и а1-GT403, содержащие дизрупцию *SUP35* в хромосоме и аллель гена *SUP35* дикого типа на плазмиде pRS316-*SUP35* ( $[CEN SUP35^+ URA3]$ ). Влияние инактивации кодона АТГ<sub>1</sub> на жизнеспособность клеток дрожжей оценивали по способности замещать в этих штаммах плазмиду pRS316-*SUP35* на плазмиду, несущую мутантную аллель *SUP35* с делецией АТГ<sub>1</sub> - *sup35-ATG<sub>1</sub>Δ*. В штамме а1-GT403 замещение *SUP35<sup>+</sup>* на *sup35-ATG<sub>1</sub>Δ* было летальным. В штамме 19А-Д780 клетки, несущие *sup35-ATG<sub>1</sub>Δ*, были также нежизнеспособны при выращивании на среде, содержащей глюкозу в качестве источника углерода, но росли на средах, содержащих вместо глюкозы галактозу или этанол. В штамме 8-7А-Д832 клетки, несущие *sup35-ATG<sub>1</sub>Δ*, росли при любых исследованных условиях. В результате тетрадного анализа гибрида 19А-Д780 x 8-7А-Д832 мы показали, что способность мутантов *sup35-ATG<sub>1</sub>Δ* к росту на глюкозе контролируется моногенно. Жизнеспособность мутантов *sup35-ATG<sub>1</sub>Δ* может объясняться альтернативными вариантами трансляции мРНК *SUP35* с триплетов АУГ<sub>124</sub> или АУГ<sub>254</sub>. Мы не выявили различий в жизнеспособности у мутантов *sup35-ATG<sub>1</sub>Δ*, *TGG<sub>254</sub>* по сравнению с таковой у мутантов *sup35-ATG<sub>1</sub>Δ*. Замещение *SUP35<sup>+</sup>* на *sup35-ATG<sub>1</sub>Δ*, *AGG<sub>124</sub>* приводило к летальности клеток дрожжей, следовательно, при инактивации стартового кодона АТГ<sub>1</sub> для инициации синтеза белка с матричной РНК гена *SUP35* необходим кодон АУГ<sub>124</sub>. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 10-04-01054).

### СЗ-10. ВЛИЯНИЕ АНЕУПОИДИИ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ НОНСЕНС-СУПРЕССИИ ПРИ ЧАСТИЧНОЙ ИНАКТИВАЦИИ ТЕРМИНАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ У *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

**Задорский С.П.**<sup>\* 1, 2</sup>, **Андрейчук Д.Ю.**<sup>1</sup>, **Сопова Ю.В.**<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский филиал ФГБУН Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: zadorsky@mail.ru

Жизненно важный ген *SUP35* дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* кодирует фактор терминации трансляции eRF3. Мутации в гене *SUP35* приводят к снижению эффективности терминации трансляции, что проявляется фенотипически как супрессия нонсенс-мутаций. На фоне мутаций *sup35* часто возникают вторичные генетические изменения, частично компенсирующие негативное влияние мутаций *sup35* на жизнеспособность. Ранее нами были получены трансгенные штаммы *S.cerevisiae* с замещением собственного гена *SUP35* гомологичным геном *Pichia methanolica*, обладавшие нонсенс-супрессорным фенотипом. Для одного из таких трансгенных штаммов, полученных на основе штамма 33Г-Д373, была характерна сниженная эффективность супрессии нонсенс-мутаций *adel-14* (UGA), *his7-1* (UAA) и *lys9-A21* (UAA) по сравнению с изогенными трансгенными штаммами. Генетический детерминант, обуславливающий антисупрессорный эффект, был обозначен нами как *ASP<sup>+</sup>* (**A**ntisuppression to **SUP35** of **P**ichia). Были выявлены плеiotропные проявления *ASP<sup>+</sup>*, основным из которых является повышенная устойчивость к солям меди. Генетический анализ показал доминантное проявление *ASP<sup>+</sup>* и совместное наследование антисупрессорного фенотипа и устойчивости к меди. Детерминант *ASP<sup>+</sup>* метастабилен. Для него характерна потеря с небольшой час-



тотой в митозе и со значительной частотой (10 – 20%) в мейозе. Мы показали, что фенотип *ASP*<sup>+</sup> обусловлен дисомией по 8-й хромосоме. Штаммы *ASP*<sup>+</sup> могут возникать спонтанно и быть отобраны на среде с добавлением 600 мкМ *CuSO*<sub>4</sub>. Частота их возникновения также повышается при сверхэкспрессии генов *GLC7* и *HHT1*, при которой нарушается сегрегация хромосом в митозе. Устойчивость штаммов *ASP*<sup>+</sup> к солям меди объясняется повышением дозы гена *CUP1*, локализованного в 8-й хромосоме. Влияние дисомии по 8-й хромосоме на эффективность нонсенс-супрессии может объясняться изменением дозы генов, локализованных в 8-й хромосоме и влияющих на точность трансляции. Кроме того, состояние анеуплоидии вызывает общий дисбаланс белков в протеоме (протеотоксический стресс) и, возможно, снижает общую эффективность синтеза белка, что также может приводить к снижению эффективности нонсенс-супрессии. При помощи “исключительной” цитодукции с переносом отдельных хромосом мы получили набор дисомиков - производных гаплоидного штамма 33Г-Д373 с геном *SUP35 P. methanolica*, несущих различные добавочные хромосомы, и показали, что для некоторых из них также характерна сниженная эффективность нонсенс-супрессии по сравнению с исходным штаммом-реципиентом.

### С3-11. ПРИМЕНЕНИЕ БИКОМПОНЕНТНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ МУЛЬТИПЛАТФОРМЕННОЙ ОБРАБОТКИ МИКРОЧИПОВЫХ ЭКСПРЕССИОННЫХ ДАННЫХ

*Ефимов В.М.*<sup>\* 1,2,3</sup>, *Катохин А.В.*<sup>1</sup>, *Шайдуллин И.И.*<sup>4</sup>, *Игнатъева Е.В.*<sup>1</sup>, *Лиф И.А.*<sup>5</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт систематики и экологии животных СО РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВПО Томский национальный исследовательский государственный университет (Томск), Россия;

<sup>4</sup>ФГАОУ ВПО Казанский (Приволжский) федеральный университет (Казань), Россия;

<sup>5</sup>Seattle Biomedical Research Institute (Сиэтл), США  
\*e-mail: efimov@bionet.nsc.ru

С помощью многомерного анализа мы обработали литературные микрочиповые данные по экспрессии генов в периферической крови человека при болезни Хантингтона, которые были проанализированы двумя разными биочипами по одному и тому же множеству проб (arrays). Теоретически два биочипа на одном и том же множестве проб должны выдавать близкие результаты. Пробы были взяты от 12 здоровых, 5 предрасположенных и 14 HD-больных по биочипам двух платформ – U133A GeneChips (Affymetrix) (N=22283) и CodeLink Uniset Human I and II bioarrays (Amersham Biosciences) (N=17526). К каждой таблице применено логарифмирование и квантильное выравнивание по пробам. Далее для каждой таблицы после центрирования и нормирования профилей экспрессии генов вычислены евклидовы расстояния между всеми пробами. Коэффициент корреляции между обеими матрицами расстояний (тест Мантеля) оказался равен 0.63 ( $p < 10^{-6}$ ). К каждой матрице расстояний применен метод главных координат, посредством которого множество проб отображается в набор точек в многомерном евклидовом пространстве. Для каждого набора точек вычислены евклидовы расстояния между всеми пробами только по первым двум главным осям. Для таких матриц расстояний тест Мантеля оказался равен 0.81 ( $p < 10^{-6}$ ). Это означает, что для обоих биочипов сходство взаимного расположения проб лучше улавливается в проекциях на первые пары главных

осей. Однако существует метод, который прямо направлен на поиск максимально соответствующих друг другу направлений изменчивости (бикомпонент) в представлениях одного и того же множества объектов в двух евклидовых пространствах – 2В-PLS анализ. После его применения и расчета матриц евклидовых расстояний для каждого биочипа между всеми пробами только по первым двум бикомпонентам тест Мантеля между ними оказался равен 0.90 ( $p < 10^{-6}$ ). Таким образом, тест Мантеля оценивает близость результатов по двум биочипам, а бикомпонентный анализ выявляет общую для них информацию. Кроме того, геометрический подход позволяет объединить матрицы расстояний и получить содержательно интерпретируемое представление взаимного расположения проб в многомерном пространстве для обоих биочипов сразу.

### С3-12. МНОГОУРОВНЕВЫЕ КОМПЬЮТЕРНЫЕ МОДЕЛИ ЭВОЛЮЦИИ ГЕННЫХ СЕТЕЙ В ДИПЛОИДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ

*Лашин С.А.*<sup>\*,1,2</sup>, *Матушкин Ю.Г.*<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет (Новосибирск), Россия

\*e-mail: lashin@bionet.nsc.ru

Генные сети определяют формирование фенотипических признаков организма. Устойчивость наследования и проявления оптимизированных в процессе эволюции признаков может поддерживаться как генетическими регуляторными механизмами, так и популяционными. Соответственно, и потеря устойчивости в экспрессии этих признаков в популяции также может обуславливаться несколькими факторами: повреждение генетического регуляторного контура (вследствие мутаций в регуляторных районах генов и/или в генах транскрипционных факторов), вследствие стресса или в результате популяционных процессов – инбридинга или далекого аутбридинга. В данной работе мы исследовали серию компьютерных моделей популяций диплоидных организмов, построенных с помощью разработанного нами программного комплекса «Диплоидный эволюционный конструктор» (ДЭК). ДЭК позволяет описывать в модели несколько уровней биологической организации: экологический, популяционный, организменный и генетический (генные сети). При описании генной сети диплоидного организма могут использоваться различные схемы генетического доминирования: полное доминирование, кодоминирование, а также материнский эффект. Разработаны и исследованы компьютерные модели процессов инбридинга и аутбридинга в популяции. Показано, что давление инбридинга по одной группе генов (входящих в состав одной генной сети) может влиять на эволюцию и генетическое разнообразие других генов, в том числе коадаптивных (входящих в состав другой генной сети). Также было показано, что на эволюцию коадаптивных генов весьма существенно влияет тип доминирования при их взаимодействии в диплоидном геноме. Построены и проанализированы модели возникновения и эволюции регуляторных контуров генных сетей (в частности, отрицательной и положительной обратной связи). Показано, что в популяции с обратной связью существенно дольше сохраняется биоразнообразие, что при меняющихся условиях среды является стабилизирующим фактором, обеспечивающим пул скрытой изменчивости, которая при смене условий будет вскрываться.

Работа поддержана грантами РФФИ 12-07-00671, 13-04-00620, Программой Президиума РАН 28.

### С3-13. БИОИНФОРМАЦИОННЫЕ ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИЙ РЕГУЛЯТОРНЫХ РАЙОНОВ ГЕНОВ

Пономарева Н.С.\*, Романов Д.Е., Алешина Е.С., Панич А.Е., Шкурят Т.П.

Южный федеральный университет (Ростов-на-Дону), Россия  
\*e-mail: nsponomareva@sfned.ru

Для понимания феномена жизни необходимо найти ответ на вопрос: какая информация и каким образом записана в геноме? В результате полного секвенирования определено, что в 1,5% человеческого генома содержится около 25 тысяч генов кодирующих белки или функциональные РНК. Оставшиеся 98,5% составляет некодирующая ДНК, структуру и функции которой только предстоит изучить. Первый подход к изучению структуры и функций регуляторных районов генов заключается в поиске уже известных структурных элементов в заданных последовательностях. Применить подобный подход позволяет разработанная программа «Автоматизированный поиск мотивов и аннотация последовательностей». Особенности программы являются автоматическая конвертация форматов, использование геномных браузеров для визуального представления результатов и стохастических алгоритмов при поиске. Используя данную программу изучены некодирующие участки ДНК генома человека в некоторых генах организация которых значительно различается по числу интронов, длине нуклеотидной последовательности (например, ген титина имеет 362 интрона, гены семейства гистонов *H1* – 0). В межгенном пространстве и интронах проведен сравнительный анализ количества микроРНК, транскрипционных сайтов связывания и других элементов генома. Другой подход ориентирован на поиск новых «мотивов», и новых типов структурных элементов, функции которых пока неизвестны. С этой целью нами разработана программа «Анализ нуклеотидных последовательностей ДНК с помощью точечной матрицы гомологии» (Свидетельство № 2013619296), которая позволяет проводить сравнительный анализ последовательностей с заданной степенью сходства и графически отображать результаты. Программа составлена с применением модифицированного алгоритма Нидлмана-Вунша, а также с помощью графика распределения сходства. Разработанные нами подходы системного анализа нуклеотидных последовательностей генома очень важны для идентификации регуляторных регионов, и является полезным ресурсом для изучения биологии человека и эволюции.

### АННОТАЦИЯ НЕКОДИРУЮЩЕЙ БЕЛОК ДНК

Шкурят Т.П.\*, Пономарева Н.С., Романов Д.Е., Панич А.Е., Алешина Е.С.

Южный федеральный университет (Ростов-на-Дону), Россия  
\*e-mail: tshkurat@yandex.ru

Некодирующие последовательности ДНК представляют собой новый рубеж в области молекулярной генетики, геномики, транскриптомики и протеомики. Они имеют огромный потенциал для продвижения нашего полного понимания биологических процессов при нормальном развитии человека и при различных заболеваниях. Парадоксом геномной эры стало то, что количество белок-кодирующих генов у людей не больше чем у бактерий и простых организмов. По-видимому, «сложность в организации человека» может быть вызвана в большей степени последовательностями которые регулируют геном, чем различиями в белок-кодирующих последовательностях. Некодирующие белок ДНК представлены различными типами РНК, регионами ответственными за модификацию

гистонов, регионами открывающими хроматин, сайтами связывания транскрипционных факторов и др. Однако сегодня еще не хватает понимания того, как регуляторная информация закодирована в ДНК и где расположены дистантно-действующие регуляторные элементы. Наша работа поисков закономерностей в организации генома основана на эволюционной консервативности, так как гены, ответственные за развитие организма, требуют более тонкого контроля экспрессии со стороны цис-регуляторных элементов, и такие элементы должны быть высоко консервативны. Мы провели анализ между некоторыми количественными признаками современных млекопитающих (26 видов) и характеристиками цис регуляторных элементов некодирующей ДНК, вокруг генов отвечающих за формирование важных физиологических и морфологических характеристик в процессе роста и развития организма. Выявлена отрицательная корреляция между темпами роста в постнатальный период и общей длиной генома, темпами роста в постнатальный период и расстоянием от конца исследуемого гена до начала следующего, темпами роста в постнатальный период и расстоянием от конца предыдущего гена до начала исследуемого. Расстояние от конца исследуемого гена до начала следующего положительно коррелирует со временем наступления половой зрелости у современных млекопитающих, а также с интервалом между пометами. Проведен сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей цис регуляторных элементов ДНК у разных видов млекопитающих с помощью точечной матрицы гомологии и специально разработанной нами программы визуализации геномов. В докладе планируется рассмотреть следующие вопросы: аннотация некодирующей белок ДНК; некодирующая ДНК и эволюция; как некодирующая ДНК взаимодействует с кодирующими элементами генома.

### \*С3-15. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА SFP1 НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНА SUP35 ДРОЖЖЕЙ SACCHAROMYCES CEREVISIAE

Рябинкова Н.А.\*<sup>1</sup>, Борхсениус А.С.<sup>1</sup>, Инге-Вечтомов С.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Кафедра генетики и биотехнологии, ФГБОУ Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>СПб филиал ФГБУН Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: nriabinkova@mail.ru

Ранее нами было показано, что в 5' регуляторной области гена *SUP35* дрожжей *S.cerevisiae* расположены потенциальные сайты для связывания транскрипционных факторов Abf1, Reb1 (три сайта), Gcn4, Mbp1. Делеция сайта для связывания белка Abf1 (аллель *sup35-ΔAbf1*) или делеции двух сайтов Reb1 приводят к снижению уровня мРНК *SUP35* и белка Sup35, что в свою очередь приводит к супрессии нонсенс-мутации *his7-1 (UAA)* – прочтыванию стоп кодона *UAA* как значащего, росту дрожжей на среде без гистидина. Дрожжи, несущие аллели гена *SUP35* с делециями сайтов связывания для транскрипционных факторов Abf1, Reb1, трансформировали многокопийной плазмидой, несущей ген *SFP1*. *SFP1* кодирует транскрипционный фактор, регулирующий экспрессию 10% генов дрожжей. У полученных трансформантов оценивали эффективность супрессии мутации *his7-1 (UAA)*. Мы показали, что сверхэкспрессия *SFP1* приводит к подавлению супрессии *his7-1 (UAA)*, вызванной мутацией *sup35-ΔAbf1*. Наши данные указывают на то, что белок *Sfp1* или влияет на экспрессию гена *SUP35* дрожжей увеличивая в результате эффективность терминации трансляции, или влияет опосредованно на прочтение кодона *UAA* как значащего.

**\*С3-16. ОСОБЕННОСТИ ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРЫ 5'-ОБЛАСТИ РНК II ПЛАЗМИДЫ pCS36-4CPA****Ясаков Т.Р.\***, Жарикова Н.В., Журенко Е.Ю., Коробов В.В., Сагитова А.И., Маркушева Т.В.

ФГБУН Институт биологии УНЦ РАН (Уфа), Россия

\*e-mail: yasakovt@gmail.com

Известно, что характерной особенностью бактериальных плазмид семейства ColE1 является положительный контроль со стороны регуляторной РНК II, которая выполняет функцию праймера при репликации. Изучение особенностей организации РНК II у новых природных штаммов позволяет не только понять механизмы распространения и эволюции плазмид в экосистемах, но и дополнить данные о строении автономно реплицирующихся элементов микробных геномов.

Целью работы явилось выявление особенностей структуры РНК II плазмиды pCS36-4CPA, выделенной из оригинального бактериального штамма *Citrobacter* sp. 36-4CPA.

В задачи исследований входило определение нуклеотидной последовательности плазмиды pCS36-4CPA, идентификация области ее репликации и последующий анализ РНК II с построением пространственной модели 5'-области. Секвенирование pCS36-4CPA осуществляли с помощью автоматического секвенатора DNA Analyzes 3730 (Applied Biosystems). Сравнение нуклеотидных последовательностей проводили с привлечением программных пакетов MEGA4, SnapGene Viewer. Пространственные модели вторичной структуры 5'-области РНК II были построены в формате сервера Mfold. В результате исследований было показано, что длина последовательности ДНК, кодирующей РНК II плазмиды pCS36-4CPA, составляет 521 п.н. Локализована последовательность промотора транскрипции РНК II. Обнаружено, что участки промотора -10 и -35 имеют динуклеотидную замену GA→CC (в участке -35) и однонуклеотидную замену A→C (в участке -10). Анализ вторичной структуры 5'-области последовательности РНК II выявил возможность формирования трех шпильчатых петель, что хорошо согласуется с данными, ранее полученными другими авторами. Между тем, обнаружено, что нуклеотидная последовательность в петлях РНК II плазмиды pCS36-4CPA в значительной степени отличается от канонической последовательности плазмиды ColE1. Таким образом, на примере плазмиды pCS36-4CPA нового природного изолята *Citrobacter* sp. 36-4CPA впервые была исследована вторичная структура 5'-области РНК II представителя рода *Citrobacter*, а также обнаружена вариабельность в области промотора ее транскрипции.

Работа выполнена при содействии Программы Президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития».

**С3-17. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПЛАЗМИДЫ pKLN80 ДРЕВНЕГО МЕРЗЛОТНОГО ШТАММА PSYCHROBACTER MARITIMUS MR29-12****Петрова М.А.**, **Кураков А.В.\***, Миндлин С.З.

ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН (Москва), Россия

\*e-mail: enlyss@rambler.ru

Было проведено исследование молекулярно-генетической структуры и функциональных свойств плазмиды pKLN80, ранее обнаруженной в древнем выделенном из многолетнемерзлых отложений штамме *Psychrobacter maritimus* MR29-12. Плазмида pKLN80 представляет собой стабильно наследующуюся кольцевую молекулу длиной 14,835 п.н, со средним содержанием G-C остатков 40,3% и содержит 20 открытых рамок считывания (ORF). На основании проведенного анализа установлено, что плазмида pKLN80 состоит из базовой части, в состав которой входят гены, ответственные за репликацию (*repB*, *oriV*

и предположительный сайт узнавания хромосомного белка DnaA) и мобилизацию (*mobA*, *mobC* и *oriT*) плазмиды, а также протяженного участка, содержащего гены устойчивости к антибиотикам различных классов (стрептомицину - *strA-strB*, тетрациклину - *tetR*(H) и бета-лактамам - *bla<sub>RTG-3</sub>*) и ассоциированные с ними IS-элементы (*ISPpy1*, *ISAbal4* и *ISPsm1*). Структура базового репликона pKLN80 является типичной для плазмид штаммов *Psychrobacter*; однако pKLN80 имеет сложную мозаичную структуру и содержит участки с различным G-C составом, предположительно происходящие от различных плазмид, преимущественно из штаммов *Psychrobacter* и *Acinetobacter*. В настоящий момент полная нуклеотидная последовательность известна для 15 плазмид психробактеров, при этом pKLN80 является единственной известной плазмидой бактерий рода *Psychrobacter*, несущей гены устойчивости к антибиотикам.

**\*С3-18. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПОПУЛЯЦИОННОЙ ГЕНЕТИКИ НА ПРИМЕРЕ LINARIA****Богомаз Д.И.\***, Матвеева Т.В., Лутова Л.А.

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: bogomazden@mail.ru

Генная инженерия растений традиционно подвергается нападкам, как искусственный чуждый природе процесс, результатом которого является появление растений-монстров. Вместе с тем, в основе наиболее распространенного подхода к получению трансгенных растений лежит природная векторная система. Известно, что *Agrobacterium tumefaciens* и *A. rhizogenes* переносят Т-ДНК (фрагменты большой плазмиды (Ti) или (Ri), соответственно) в хозяйские клетки, приводя к формированию на растении трансгенных тканей – опухолей или косматых корней. В большинстве случаев развитие опухоли или косматых корней ткани является причиной гибели растения. Вместе с тем, у представителей некоторых родов растений была обнаружена фиксация Т-ДНК в геноме и ее последовательная передача в ряду половых поколений. Это примеры горизонтального переноса генов от бактерий к растениям. Первый пример был описан в лаборатории Юджина Нестера в пределах рода *Nicotiana*, второй описан в нашей лаборатории в пределах рода *Linaria*. Нами показано, что в пределах рода *Linaria* есть группа видов, содержащих Т-ДНК. Представляет интерес выяснение вопроса, как расселялись природно-трансгенные льнянки и как менялась структура Т-ДНК в ходе расселения. Ответить на вопрос позволит изучение тонкого полиморфизма Т-ДНК в различных популяциях льнянок. Ответы на эти вопросы интересны и с точки зрения изучения растительно-микробных взаимодействий и с точки зрения разработки научных подходов к изучению возможных отсроченных рисков возделывания трансгенных растений, получаемых людьми. Ответить на вопрос позволит изучение тонкого полиморфизма Т-ДНК. Нами предложен подход для изучения популяционных полиморфизмов Т-ДНК при помощи секвенатора нового поколения. Он основан на получении смеси ДНК льнянок каждой популяции и ПЦР с праймерами, помеченными популяционноспецифичными метками. Далее следует секвенирование ПЦР-фрагментов на секвенаторе Roche Junior по методике, рекомендованной для метагеномного анализа с использованием последовательностей таксономически значимых районов. «Профили» Т-ДНК различных популяций различных видов льнянок будут использоваться для выявления предполагаемой предковой формы Т-ДНК и характеристики распространения близких к ней форм биоинформатическими методами. Работа выполнена с использованием оборудования Ресурсного центра СПбГУ «Развитие



молекулярных и клеточных технологий» в рамках темпланов № 0.37.87.2011 «Метагеномный анализ микробиома как многофункционального высокоинтегрированного биосферного «интерфейса», № 0.37.526.2013 «Филогеографическое исследование видов рода *Linaria*, содержащих Т-ДНК *Agrobacterium rhizogenes* в геноме».

**M3-01. ПРИОНОПОДОБНЫЙ ДЕТЕРМИНТ [NSI<sup>+</sup>]-НОВЫЙ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЙ РЕГУЛЯТОР ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРМИНАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ У ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

**Нижников А.А.**<sup>\*1,2</sup>, **Кондрашук А.М.**<sup>1</sup>, **Сайфитдинова А.Ф.**<sup>1</sup>, **Магомедова З.М.**<sup>3</sup>, **Антопец К.С.**<sup>1</sup>, **Галкин А.П.**<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>3</sup>Institute of Molecular Biotechnology, Technische Universität (Грац), Австрия

\*e-mail: ant.nizhnikov@gmail.com

Прионы представляют собой изоформы белков, обладающие инфекционностью и способностью к агрегации. В нашей лаборатории описан детерминант [NSI<sup>+</sup>], обладающий свойствами, присущими всем прионам дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*: доминантностью, нехромосомным наследованием в мейозе, инфекционностью и способностью спонтанно возникать *de novo*. Этот детерминант вызывает подавление вегетативного роста и снижение эффективности терминации трансляции, фенотипически детектируемое в штаммах, которые продуцируют модифицированные варианты фактора терминации трансляции eRF3 (Sup35) со сниженной функциональной активностью. В таких штаммах, маркированных нонсенс-мутациями *ade1-14* или *trp1-289*, [NSI<sup>+</sup>] вызывает нонсенс-супрессию, то есть рост на селективных средах без добавления аденина или триптофана, соответственно. Также [NSI<sup>+</sup>] вызывает нонсенс-супрессию в штаммах, несущих интактный *SUP35*, в случае, если в среду добавлены аминогликозидные антибиотики, паромоцилин или генетицин, являющиеся общими ингибиторами трансляции. Эти данные свидетельствуют в пользу того, что молекулярный механизм действия [NSI<sup>+</sup>] на терминацию трансляции не специфичен в отношении *SUP35*. В результате масштабного генетического скрининга нам удалось выявить одну из мишеней [NSI<sup>+</sup>], опосредующую снижение эффективности терминации трансляции на фоне этого детерминанта. Ею оказался ген *SUP45*, кодирующий eRF1 – фактор терминации трансляции первого класса. Мы показали, что увеличение экспрессии *SUP45* в штаммах [NSI<sup>+</sup>] приводит к маскировке нонсенс-супрессии, но сам детерминант при этом не утрачивается. При этом, для маскировки [NSI<sup>+</sup>] достаточно даже незначительного увеличения экспрессии *SUP45*, вызванного, например, введением дополнительной копии этого гена на центромерной плазмиде. Дальнейший анализ, проведенный с помощью количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени, показал, что [NSI<sup>+</sup>] вызывает статистически достоверное снижение относительного количества мРНК *SUP45*. Это полностью объясняет эффект маскировки [NSI<sup>+</sup>] при увеличении экспрессии *SUP45*. Таким образом, [NSI<sup>+</sup>] является нехромосомным детерминантом, обладающим свойствами дрожжевого приона и принимающим участие в регуляции метаболизма мРНК в дрожжевой клетке. Дальнейшие исследования, направленные, прежде всего, на биохимическую идентификацию структурного белка этого детерминанта, позволят установить конкретный молекулярный механизм, который лежит в основе влияния [NSI<sup>+</sup>] на эффективность терминации трансляции.

**M3-02. ХИМЕРНЫЙ БЕЛОК SUP35NM-ADE2: ВЛИЯНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ДОМЕНА НА ИНИЦИАЦИЮ ПРИОНОГЕНЕЗА И ВОСПРОИЗВЕДЕНИЕ ПРИОНА В ДРОЖЖАХ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

**Сопова Ю.В.**<sup>\*1,2</sup>, **Борхсениус А.С.**<sup>1</sup>, **Задорский С.П.**<sup>1,2</sup>, **Инге-Вечтомов С.Г.**<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: sopova@hotmail.com

Ген *SUP35* дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* кодирует фактор терминации трансляции eRF3. Переход белка Sup35 в прионную конформацию (возникновение фактора [PSI<sup>+</sup>]) приводит к нонсенс-супрессии - прочтению стоп-кодонов как значащих. Белок Sup35 состоит из трех доменов – N, M и C. За индукцию и воспроизведение [PSI<sup>+</sup>] отвечает N-концевой домен белка Sup35, тогда как C-концевой домен необходим для процесса терминации трансляции. Для индукции приона [PSI<sup>+</sup>] *de novo* необходимо наличие в дрожжевой клетке фактора [PIN<sup>+</sup>] – прионной формы продукта гена *RNQ1*. Ранее нами было показано, что химерный белок NM-Ade2, объединяющий NM-домен белка Sup35 и белок Ade2 (AIP-карбоксилазу), обладает повышенной по сравнению с нормальным белком Sup35 способностью к инициации прионизации в штаммах *S.cerevisiae*, несущих прион [PIN<sup>+</sup>]. Прионная агрегация белка NM-Ade2 индуцирует переход белка Sup35 в прионную конформацию, по-видимому, путем образования гетероприона Sup35/NM-Ade2. Одной из возможных причин повышенной способности NM-Ade2 к инициации прионизации является мультимерная структура AIP-карбоксилазы, способствующая сближению мономеров NM-Ade2. Мы показали, что гетероприон, образованный белками NM-Ade2 и Sup35, может воспроизводиться и в отсутствие гена *RNQ1* в штаммах [pin<sup>-</sup>]. При этом мы наблюдали гетерогенность по эффективности нонсенс-супрессии между отдельными клонами, воспроизводящуюся в ряду поколений. После потери NM-Ade2 гомоприон, образованный только белком Sup35, наследовался стабильно: клоны митотического потомства не отличались по эффективности супрессии. Таким образом, наличие в клетке белка NM-Ade2 приводит к нестабильности воспроизведения прионной конформации белка Sup35. Более того, введение центромерной плазмиды с геном NM-ADE2 в штаммы [PSI<sup>+</sup>] [pin<sup>-</sup>] также приводило к дестабилизации прионной изоформы белка Sup35 (возникновению гетерогенности по эффективности нонсенс-супрессии и повышению частоты потери сильных вариантов [PSI<sup>+</sup>]). Одним из возможных объяснений дестабилизирующего влияния белка NM-Ade2 на воспроизведение прионной формы Sup35 может быть следующее: белок Ade2 в составе NM-Ade2 в силу пространственной организации и/или мультимерной структуры может препятствовать нормальной укладке прионных доменов Sup35N в составе фибрилл. Это может создавать условия для изменения характера укладки мономеров в составе прионного агрегата (переопределения прионной матрицы).

**M3-03. ПРОТЕИНКИНАЗА SCH9 УЧАСТВУЕТ В ПОДДЕРЖАНИИ ПРИОНА [ISP<sup>+</sup>] У ДРОЖЖЕЙ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

**Липаева П.В.**<sup>\*</sup>, **Дроздова П.Б.**, **Радченко Э.А.**, **Рогоза Т.М.**, **Миронова Л.Н.**

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

\*e-mail: polina.lipaeva@gmail.com

Прион [ISP<sup>+</sup>] у дрожжей является продуктом прионного превращения транскрипционного фактора Sfp1. Известно, что

возникновение и поддержание прионов дрожжей зависит от других белков. С этой точки зрения в первую очередь представляют интерес белки, функционально и физически взаимодействующие с белком Sfp1. К числу таких белков относится протеинкиназа Sch9. Она представляет собой потенциально прионогенный глутамин-аспарагин-богатый белок, функционально связанный с Sfp1: оба белка принимают участие в регуляции генов биогенеза рибосом и генов рибосомных белков и являются мишенью фосфорилирования протеинкиназой TORC1. Для того чтобы выяснить, влияет ли Sch9 на возникновение приона  $[ISP^+]$ , мы получили делецию гена *SCH9* в штаммах  $[isp^-]$  и показали, что инактивация гена *SCH9* не влияет на фенотип клеток  $[isp^-]$ . Затем полученные клоны трансформировали мультикопийной плазмидой, несущей ген *SFP1*. Оказалось, что индукция  $[ISP^+]$  при сверхэкспрессии *SFP1* в штаммах с делецией *SCH9* происходит реже, чем в штамме без делеции этого гена. Чтобы проверить влияние Sch9 на поддержание  $[ISP^+]$ , мы провели анализ наследования этого приона в потомстве от скрещивания штамма *sch9Δ [isp^-] со штаммом  $[ISP^+]$ . Соотношение аскоспор  $[ISP^+]$  и  $[isp^-]$  соответствовало 1:1 ( $\chi^2=2,18$ ), что говорит о зависимости поддержания  $[ISP^+]$  от наличия в клетке белка Sch9. Поскольку белок Sch9 входит в число потенциальных прионов, возникает вопрос: связана ли обнаруженная зависимость возникновения и поддержания  $[ISP^+]$  от белка Sch9p, с вовлечением Sch9 в агрегаты Sfp1 в клетках  $[ISP^+]$ . Для ответа на этот вопрос клетки  $[ISP^+]$  и  $[isp^-]$  трансформировали плазмидой, содержащей ген *SCH9*, слитый с геном флуоресцентного белка YFP. Мы обнаружили различия в характере флуоресценции между клетками  $[isp^-]$  и  $[ISP^+]$ : подавляющее большинство клеток  $[isp^-]$  проявляли диффузионное распределение флуоресцентной метки, в 10% клеток  $[ISP^+]$  наблюдалось возникновение концентрированных точек флуоресценции. Эти данные позволяют сделать предварительный вывод о том, зависимость возникновения и поддержания приона  $[ISP^+]$  от белка Sch9 связана с вовлечением его в прионные агрегаты, формируемые белком Sfp1. Работа поддержана ИШ-5345.2012.4, НИР из средств СПбГУ 0.37.696.2013, грантами РФФИ 11-04-00146а, МК-165.2012.4. Секвенирование плазмид осуществлялось в Ресурсном центре развития молекулярных и клеточных технологий.*

### М3-04. ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ БЕЛКА PrP, ОТВЕЧАЮЩИХ ЗА ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ПОЛИМЕРОВ PrP С РАЗЛИЧНЫМИ АМИЛОИДАМИ

**Рубель А.А.\*<sup>1</sup>, Рыжова Т.А.<sup>1,2</sup>, Антопец К.С.<sup>1</sup>, Качкин Д.В.<sup>1</sup>, Галкин А.П.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: a.rubel@spbu.ru

Более 40 неизлечимых заболеваний млекопитающих, в том числе человека, связаны с аномальной укладкой и агрегацией белков, в норме являющихся растворимыми. Такие заболевания называют «болезнями неправильной укладки» или амилоидозами. К амилоидозам относятся такие заболевания, как болезнь Альцгеймера, хорея Хантингтона, болезнь Паркинсона, диабет второго типа, а также прионные заболевания (инфекционные амилоидозы): болезнь Крейтцфельда-Якоба, куру, «коровье бешенство», скреппи и другие. В ходе ряда исследований, выполненных в последние годы, были получены данные о том, что инфекционные и неинфекционные амилоиды могут взаимодействовать, при этом в ряде случаев, наличие амилоидных полимеров одного белка может инициировать амило-

идогенез другого белка. В этой связи выяснение механизмов, контролирующего взаимодействие амилоидов и поиск факторов, блокирующих этот процесс, является одной из самых актуальных задач современной биомедицины. В проведенных нами исследованиях, было показано, что дрожжи сахаромиды являются удобной моделью для анализа взаимодействия амилоидов *in vivo*. Используя дрожжевую модель, было установлено, что полимеры белка Prion Protein (PrP) могут физически связываться с пептидом амилоид бета (Ab). Основную роль в обеспечении физического взаимодействия играет участок PrP с 28 по 89 аминокислоту. Последовательность с 90 по 109 аминокислоту важна для колокализации агрегатов PrP с пептидом Ab. В ходе работы было выявлено, что полимеры PrP физически не взаимодействуют с дрожжевым прионом  $[PSI^+]$  (прионная форма белка Sup35), на основании полученных данных сделано заключение о специфичности взаимодействия PrP с пептидом Ab в живых клетках эукариот. Исследования по взаимодействию амилоидных белков были выполнены на базе РЦ «Хромас». Работа выполнена при поддержке гранта СПбГУ № 1.50.2218.2013.

### М3-05. ПОЛИМОРФИЗМ САХАРОЗОСИНТАЗНОГО ДОМЕНА ГЕНА *SUS2* ДИКИХ И КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ВИДОВ ТОМАТОВ

**Слугина М.А.\*<sup>1</sup>, Борис К.В.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Центр «Биоинженерия» РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>Институт общей генетики РАН (Москва), Россия

\*e-mail: mashinmail@mail.ru

Сахарозосинтаза - один из ключевых ферментов углеводного метаболизма растений, катализирующий обратимое превращение сахарозы в УДФ-глюкозу и фруктозу и участвующий в формировании ответа на холодовой и осмотический стресс. У представителей секции *Lycopersicon* (томат) известна полная нуклеотидная последовательность гена сахарозосинтазы *Sus2* только одного вида – *Solanum lycopersicum*. Известно, что *Sus* белок содержит два функциональных домена: сахарозосинтазный и глюкозилтрансферазный. Целью работы было описание полиморфизма сахарозосинтазного домена гена *Sus2*. Для этого были получены и проанализированы 46 первичных нуклеотидных последовательностей 9 видов (*S. habrochaites*, *S. peruvianum* var. *dentatum*, *S. peruvianum*, *S. cheesmanii*, *S. pimpinellifolium*, *S. lycopersicum*, *S. glandulosum*, *S. chmielewskii*), 12 подвидов и 9 сортов томата обыкновенного (*S. lycopersicum*). Среди подвидов и сортов *S. lycopersicum* длина полученного участка составила 762 п.н. Последовательность была крайне консервативна, уровень полиморфизма не превышал 0,13%. В пределах всего проанализированного участка найдена лишь одна нуклеотидная замена в интроне V последовательности сорта Динар. В сравнении с *S. lycopersicum* межвидовой полиморфизм *Sus2* дикорастущих видов томатов достаточно высок (7,43%). Длина фрагмента варьировала от 762 до 792 п.н. Всего идентифицировано 59 переменных сайтов, из которых 35 – информативные. В экзонных последовательностях было выявлено 24 SNPs, позволивших выделить 10 аллельных вариантов. В последовательности интронов детектировано 35 SNPs. Помимо единичных замен, в составе интронов выявлено 12 инделей, в том числе, характерные для групп видов. Экзонные последовательности были транслированы. Всего в полученных последовательностях было выявлено 7 аминокислотных замен, 3 из которых были консервативными и 4 – радикальными. На основании полученных данных была построена дендрограмма и установлены филогенетические связи внутри секции *Lycopersicon*. Все рассмотренные виды томатов образовали два крупных кластера: первый включал в себя наиболее древние виды (*S.*

*habrochaites*, *S.peruvianum* var. *dentatum*, *S. peruvianum*), второй кластер разделился на две группы, представленные видами *S. cheesmanii*, *S. pimpinellifolium*, *S. lycopersicum* и *S. glandulosum*, *S. chmielewskii*, соответственно. Полученные данные имеют как практическое, так и теоретическое значение, так как описанные аллельные варианты могут использоваться при селекции томатов, а рассмотренный полиморфизм последовательностей интронов вносит вклад в реконструкцию филогении семейства Solanaceae.

### М3-06. СТРУКТУРНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА *SRLK*, КОДИРУЮЩЕГО СОЛЕЗАВИСИМУЮ КИНАЗУ, У КОНТРАСТНО РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ГЕНОТИПОВ ЛЮЦЕРНЫ ГОЛУБОЙ

*Мунтян А.Н.\**, *Мунтян В.С.*, *Саксаганская А.С.*,  
*Румянцова М.Л.*, *Симаров Б.В.*

*Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии  
РАСХН (Санкт-Петербург, Пушкин), Россия*

\*e-mail: vucovar@yandex.ru

Ген *Srlk* кодирует рецепторную киназу, обладающую повышенной активностью в корнях растений *Medicago truncatula* в условиях засоления. Из коллекции ВИР отобраны различающиеся по солеустойчивости образцы люцерны посевной и образцы дикорастущих видов люцерн *M. coerulea*, *M. falcata*, *M. trautvetteri*. Наиболее солеустойчивыми были признаны растения видов люцерны изменчивая (тетраплоидная) и люцерна голубая (диплоидная). По результатам оценки развития и массы растений, выращенных в микровегетационных опытах в присутствии соли, отобраны контрастно различающиеся генотипы, которые далее выращивали в условиях вегетационного опыта в фитотроне для получения семян. Изучен структурный полиморфизм участка в 732 п.н. гена *Srlk*, кодирующего рецепторную часть киназы. Анализ последовательности гена *Srlk* у отобранных солеустойчивых генотипов растений видов *Medicago sativa*, *M. falcata*, *M. trautvetteri* и *M. coerulea*. Филогенетическое древо, построенное на основании полученных данных, позволяет считать, что соответствующие последовательности гена *Srlk* у солеустойчивых генотипов растений *Medicago sativa*, *M. falcata* и *M. trautvetteri* являются более сходными, чем у растений видов *M. coerulea*. Проведен попарный анализ нуклеотидного и аминокислотного полиморфизма гена *Srlk* у солеустойчивых (max) и солеустойчивых генотипов (min) растений диплоидного вида люцерны *Medicago coerulea*. В результате показано, что солеустойчивые генотипы более консервативны, тогда как у солеустойчивых генотипов наблюдаются множественные замены. Таким образом, показано, что повышение устойчивости к стресс-фактору ведет к значительным структурным перестройкам в рецепторной части трансмембранной киназы. Тот факт, что обе аллели гена одного генотипа были идентичны как у солеустойчивого генотипа, так и у солеустойчивого генотипа указывает на то, что в популяции исходно присутствуют генотипы растений, различающихся по солеустойчивости. Полученные результаты согласуются с теорией Вавилова Н.И., о существовании генотипически различных форм растений, адаптированных к различным эколого-географическим факторам в предполагаемых центрах разнообразия. Полученные результаты впервые показывают, что под воздействием стресс-факторов могут происходить существенные генетические изменения в структуре сигнальных белков, что также может указывать на то, что и симбиотические взаимоотношения могут также иметь значительные изменения.

### М3-07. ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ ЦЕЛЛЮЛОЗОСИНТАЗ, ФУНКЦИОНИРУЮЩИХ В СТЕБЛЕ ЛЬНА (*LINUM USITATISSIMUM* L.)

*Галиновский Д.В.\*<sup>1</sup>*, *Анисимова Н.В.<sup>1</sup>*, *Подвицкий Т.А.<sup>1</sup>*,  
*Кильчевский А.В.<sup>1</sup>*, *Титок В.В.<sup>2</sup>*, *Хотылева Л.В.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (Минск), Беларусь;*

*<sup>2</sup>Центральный ботанический сад НАН Беларуси (Минск), Республика Беларусь*

\*e-mail: dimgal200@rambler.ru

Современные льноперерабатывающие производства нуждаются в высококачественном сырье, поэтому создание новых сортов льна с улучшенными технологическими характеристиками волокна – необходимое условие успешного развития этой отрасли. Основным структурным компонентом льноволокна являются молекулы целлюлозы, которые откладываются во вторичной клеточной стенке флоэмы стебля и определяют физико-химические и технологические характеристики волокон льна. В работе ставили цель идентифицировать гены целлюлозосинтаз, специфически экспрессирующиеся в стеблях растений льна-долгунца сорта Блакіт (Беларусь). Использовали методику изучения экспрессии генов целлюлозосинтаз на основе их класс-специфических областей (CSRII), которая ранее была предложена для древесных растений. Нам удалось клонировать и затем определить нуклеотидную последовательность четырех уникальных CSRII фрагментов генов целлюлозосинтаз, которые были депонированы в базу данных EST-BLAST (присвоены номера JZ482253, JZ482254, JZ482255, JZ482256). При сравнении CSRII льна-долгунца с последовательностями гомологичных генов *Arabidopsis thaliana* были идентифицированы четыре гена целлюлозосинтаз льна – *LusCesA1*, *LusCesA4*, *LusCesA7* и *LusCesA9*. Основываясь на функциональной характеристике ортологов *A. thaliana*, заключили, что гены *LusCesA1* и *LusCesA9* ассоциированы с синтезом первичной клеточной стенки, а *LusCesA4* и *LusCesA7* необходимы для биосинтеза вторичной клеточной стенки. Обнаружены особенности функционирования генов целлюлозосинтаз в разных частях растений льна. Экспрессия генов *LusCesA4*, *LusCesA7* и *LusCesA9* установлена в стебле, *LusCesA1* и *LusCesA4* в апикальной части растений и *LusCesA4* в листьях растений льна-долгунца на стадии быстрого роста. Экспрессия генов *LusCesA7* и *LusCesA9* является специфичной для стеблей льна-долгунца и, предположительно, может влиять на качество формируемого льноволокна.

### М3-08. ВЫДЕЛЕНИЕ И СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА МУС-ПОДОБНЫХ РЕГУЛЯТОРНЫХ ФАКТОРОВ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

*Шоева О.Ю.\**, *Хлесткина Е.К.*

*ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН  
(Новосибирск), Россия*

\*e-mail: olesya\_ter@bionet.nsc.ru

Семейство генов, кодирующих МУС-подобные транскрипционные факторы, выполняет в жизни растений важные функции, среди которых участие в дифференциации эпидермы, биосинтезе вторичных метаболитов, а также в защитном ответе в условиях стресса. В данной работе из генома мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.,  $2n = 6x = 42$ , ВВААDD) были выделены нуклеотидные последовательности пяти генов *Мус*, которые были локализованы в хромосомах 2А (2 копии), 2В (1 копия) и 2D (2 копии) пшеницы. Для генов *Мус1* (хромосома 2А) и *Мус2*



(хромосома 2В) показана специфическая активация при биосинтезе флавоноидных пигментов антоцианов в перикарпе зерновки и ушках листовых влагалищ, соответственно. Ко-локализация гена *Myc1* с геном *Pp3*, который совместно с *Pp-1* контролирует формирование фиолетовой окраски перикарпа, а также ко-экспрессия гена *Myc1* со структурными генами биосинтеза антоцианов, указывает на то, что ген *Myc1* является функциональным геном-кандидатом для *Pp3*. Функциональную роль других генов *Myc*, выделенных из генома пшеницы, еще предстоит определить. Исследование выполнено при частичной поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (14-04-31637\_мол-а), Президиума РАН (программа Молекулярная и клеточная биология) и гранта Президента Российской Федерации для молодых докторов наук (МД-2615.2013.4).

### М3-09. БАЗА ДАННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ТРАНСКРИПТОМА ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.)

**Жернаков А.И.\*<sup>1</sup>, Жуков В.А.<sup>1</sup>, Еришов Н.И.<sup>2</sup>, Борисов А.Ю.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии РАСХН (Санкт-Петербург, Пушкин), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия

\*e-mail: azhernakov@gmail.com

Методы секвенирования ДНК нового поколения (Next Generation Sequencing, NGS) открывают новые возможности для исследований, такие как, например, возможность провести массовое секвенирование кДНК-библиотек (транскриптомный профиль). Однако специфика получаемых методами NGS данных требует особых подходов для их анализа. В случае транскриптомных исследований одной из основных задач является ассоциирование получаемых последовательностей с конкретными генами-источниками. Для видов, для которых уже известен и аннотирован геном, данная задача решается относительно просто – полученные короткие последовательности ищутся внутри известных последовательностей генов (мРНК) (картирование, mapping). Для других же видов задача осложняется необходимостью сборки из коротких последовательностей множества псевдо-генов (сборка, de novo assembly). Подобные сборки в рамках одного исследования содержат множество ошибок и неточностей: неполные гены, химеры, амбивалентности. Для повышения точности подобных сборок большое практическое значение может иметь создание обобщенных баз данных, объединяющих результаты транскриптомных исследований конкретных видов. По мере накопления данных, создания алгоритмов анализа и инструментов доступа надежность сборок будет возрастать. Создание такой базы данных с ней для гороха посевного (*Pisum sativum* L.) и инструментария для работы с базой является целью настоящей работы. Горох является важной сельскохозяйственной культурой, которая на протяжении многих лет являлась важной растительной моделью, в том числе для изучения симбиотических отношений между бобовыми растениями и азотфиксирующими бактериями (ризобиями). Однако в «геномную эру» горох оказался крайне неудачной моделью исследований в виду большого размера генома 4300 Мб, примерно половина которого, представляют собой повторяющиеся элементы. В базу включены публичные доступные данные NGS-секвенирования транскриптома гороха (Franssen et al. 2011 и Kaur et al. 2012.), а также данные нескольких неопубликованных транскриптомных исследований, осуществленных на разных платформах NGS (Illumine, Roche 454). Далее, несколько de novo сборок транскриптома, а так же обобщенная сборка на основе имеющихся, с учетом возможных ошибок и вариантов. Кроме того, в базе учитываются данные об известных экспрессирующихся элементах транскриптома гороха (EST, гены).

Работа выполнена при поддержке Совета по грантам Президента РФ (НШ-4603.2014.4), РФФИ (13-04-01702-а и 13-04-01703-а).

### М3-10. СЕКВЕНИРОВАНИЕ И АНАЛИЗ ГЕНОМА *HOLOSPORA CURVIUSCULA*

**Белявская А.Я.\*<sup>1</sup>, Логачева М.Д.<sup>2</sup>, Малько Д.Б.<sup>3</sup>, Гарушияц С.К.<sup>2</sup>, Гельфанд М.С.<sup>2</sup>, Раутиан М.С.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия;

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

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

\*e-mail: alex.belavskaja@gmail.com

Симбиотические бактерии рода *Holospira* – это грам-отрицательные бактерии из порядка *Rickettsiales* класса *Alphaproteobacteria*. Они являются облигатными симбионтами инфузорий из рода *Paramecium*, заселяющими ядра (макро- или микронуклеус) клеток. Эти бактерии имеют сложный жизненный цикл, представленный двумя стадиями: репродуктивной формой, имеющей вид маленьких палочкообразных клеток, и инфекционной – длинными клетками, достигающими 20 мкм в длину. Репродуктивные формы способны бинарно делиться внутри ядра хозяина и давать начало инфекционным формам. Размножаться вне хозяина голоспоры не способны. Все виды *Holospira* обладают хозяиновой специфичностью – способностью заражать только определенный вид инфузори, и ядерной специфичностью – способностью заселять только одно из ядер инфузории. В результате секвенирования (Illumina MiSeq) был получен черновой вариант генома, состоящий из 208 контиг общей длиной 1589519 п.о., средняя длина рида -- 212 п.о., содержание G+C пар 37,4%, среднее покрытие – 550. Автоматическая аннотация генома с помощью сервера RAST выявила 45 генов, кодирующих РНК, и 1548 белок кодирующих генов, 702 из которых определены как гипотетические белки с неизвестной функцией. Полученный геном был сравнен с частичными геномами двух других видов *Holospira* – *H. undulata* и *H. obtusa*, и 62 полными геномами штаммов 30 эндосимбионтных видов, относящихся к *Alphaproteobacteria* (роды *Anaplasma*, *Ehrlichia*, *Neorickettsia*, *Rickettsia*, *Orientia*, *Wolbachia*). Сравнение выявило 433 гена, найденных у всех облигатных эндосимбионтов класса *Alphaproteobacteria*, и 203 гена, характерных только для *Holospira*. Проводится функциональная аннотация генома с целью метаболической реконструкции, а также идентификации генов, отвечающих за специфическое взаимодействие *Holospira* с хозяином.

### М3-11. КОМПЬЮТЕРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ЭЛОНГАЦИИ ТРАНСЛЯЦИИ У *Mycoplasma*

**Соколов В.С.\*<sup>1</sup>, Матушкин Ю.Г.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия

<sup>2</sup>Новосибирский национальный исследовательский государственный университет (Новосибирск), Россия

\*e-mail: sokovlad1@bionet.nsc.ru

В современной биологии изучение эффективности и способов оптимизации экспрессии генов представляет собой актуальную и существенную для теории и практики задачу. Ее исследование важно как с точки зрения фундаментальной науки – получение теоретических оценок экспрессии генов в тех организмах, экспериментальные данные по которым пока еще недоступны, так и в практическом приложении, например, для планирования

генно-инженерных экспериментов. Результаты исследований в данной области показывают, что для одноклеточных организмов и многих многоклеточных существует зависимость уровня экспрессии генов от таких факторов как кодонный состав гена, наличие и распределение вторичных структур в мРНК и «прочность» этих структур. В зависимости от сочетания этих факторов выделяется 5 групп организмов, по-разному оптимизировавших первичную структуру своих генов в процессе эволюции. В работе описывается программное обеспечение (интернет доступное и консольное), реализующее алгоритм исследования секвенированного генома. Алгоритм вычисляет для каждого гена организма параметры, связанные с его кодонным составом и «прочностью» вторичных структур мРНК. В результате каждому гену присваивается так называемый индекс эффективности элонгации, показывающий предполагаемую эффективность прохождения стадии элонгации трансляции данного гена. Также в работе проведен биоинформатический анализ геномов 62 штаммов бактерий, принадлежащих к роду *Mycoplasma*. Показано, что эффективность трансляции генов у данных организмов зависит от количества потенциальных вторичных структур в них и не зависит от кодонного состава. Обнаружены виды с пониженным содержанием локальных инвертированных повторов в генах. Анализ филогении показал возможную связь этой особенности со средой обитания данных организмов. Обнаружена не свойственная остальным микоплазмам высокая концентрация локальных инвертированных повторов в районе старт-кодона трансляции в генах *M. haemofelis*.

### М3-12. SARP – НОВЫЙ АЛГОРИТМ ДЛЯ ПОИСКА КОМПОЗИЦИОННЫХ ОТКЛОНЕНИЙ В БЕЛКОВЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЯХ

*Антовец К.С.\*<sup>1</sup>, Низнников А.А.<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Санкт-Петербург), Россия

\*email: kirantonev@gmail.com

В связи с современными успехами в области секвенирования геномов возрастает потребность в высокоэффективных методах аннотирования последовательностей. Важным этапом аннотирования является не только поиск последовательностей, кодирующих белки и регуляторные участки, но и выявление внутри белковых последовательностей участков, отличающихся от остальных по частотам встречаемости (композиции) аминокислот. Такие участки часто связаны с выполнением белком определенных функций, и их важно учитывать при определении филогении белковых последовательностей. Удобным при выявлении композиционно-аномальных участков белков параметром является вероятность случайного возникновения последовательности при известных частотах аминокислот в среднем в протеоме. Чем сильнее композиция аминокислот на участке последовательности отличается от композиции всего протеома, тем ниже вероятность возникновения такой последовательности. Поэтому один из известных и широко используемых алгоритмов поиска участков с композиционными отличиями состоит в нахождении последовательностей с наименьшей вероятностью (ПНВ). При этом осуществлялся прямой перебор всех возможных подпоследовательностей и вычисление их вероятностей. Недостатком такого алгоритма является большие вычислительные затраты и квадратичная зависимость времени вычисления от длины последовательности. Мы предложили свой оригинальный вариант поиска ПНВ, названный SARP (Sequence Analysis based on the Ranking of Probabilities), и не

использующий метод перебора [Antonets and Nizhnikov, *Evol. Bioinform.*, 2013, V.9 P.263-273]. Суть этого алгоритма состоит в том, что он осуществляет поиск коротких подпоследовательностей, которые должны включаться в ПНВ, и дальнейшее расширение этих участков для определения точных границ ПНВ. На каждом последующем шаге происходит добавление к подпоследовательности одной аминокислоты, поочередно, с начала и с конца подпоследовательности. Из возможных вариантов подпоследовательностей (с добавлением одной аминокислоты с начала или с конца подпоследовательности или с обеих сторон) выбирается наименее вероятная (то есть наиболее обогащенная какой-либо аминокислотой (или группой аминокислот)). Нам удалось достигнуть крайне значительного, до 230 раз, снижения затрат по времени на поиск ПНВ, в сравнении с алгоритмами, опубликованными другими авторами. Разработанный нами алгоритм SARP может быть применен для решения широкого круга задач. В частности, он позволяет осуществлять поиск ПНВ сразу для большого количества белков или групп протеомов, что важно при сравнении эволюции композиционно-аномальных участков и создании веб-сервисов для поиска ПНВ.

### М3-13. МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ПОДЗЕМНЫХ ТЕРМАЛЬНЫХ ВОД ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

*Кадников В.В.\*<sup>1</sup>, Белецкий А.В., Марданов А.В., Равин Н.В.*

Центр «Биоинженерия» РАН (Москва), Россия

\*e-mail: vkadnikov@bk.ru

Экстремофильные (обитающие в экстремальных условиях среды), в первую очередь, термофильные, микроорганизмы активно исследуются последние два десятилетия. Они представляют интерес как для фундаментальных исследований, поскольку большинство термофилов представляют эволюционно древние формы жизни, встречающиеся в уникальных экосистемах, так в качестве биотехнологически-значимых объектов. Одной из наименее изученных экологических ниш является подземная биосфера, где нагрев пород и пластовых вод происходит по мере приближения к магматическому ядру, что создает условия для развития термофильных микробных сообществ. Целью работы является исследование биоразнообразия, возможных биогеохимических функций и биотехнологического потенциала термофильных микроорганизмов, обитающих в глубинных подземных водах Западной Сибири (Томская область), в результате секвенирования и анализа метагеномов микробных сообществ. Мы исследовали микробное сообщество подземных термальных вод, вытекающих с глубины 2775 метров в нефтепоисковой скважине 3Р Парабельского района, и сообщество микроорганизмов термальных вод в нефтепоисковой скважине 1Р в пос. Белый Яр. Для характеристики сообществ было проведено два эксперимента - молекулярная идентификация микроорганизмов с помощью пиросеквенирования переменных фрагментов генов 16S рибосомной РНК и секвенирование полного метагенома. Определены физико-химические характеристики соответствующих экологических ниш - температура и химический состав термальных вод, состав и изотопный состав растворенных газов. В результате пиросеквенирования переменных фрагментов гена 16S рРНК было установлено, что наибольшую долю (~80%) в сообществе термальных вод скважины 3Р Парабельского района составляли бактерии филума Firmicutes, относящиеся к родам *Desulfovibrio* (~53%), *Desulfotomaculum* (~12%) и *Thermacetogenium* (~8%). Гидротрофные метаногены рода *Methanothermobacter* представляли архейную часть сообщества. Анализ последовательностей функциональных генов в метагеноме позволил отнести их к определенным микроорганизмам и предсказать вероятные функ-

ции этих генов. На основании анализа состава микроорганизмов и набора присутствующих в метагеноме генов можно сделать вывод о том, что сообщество термальных вод скважины ЗР характеризуется преимущественно хемолитоавтотрофным метаболизмом, в основе которого лежат процессы окисления водорода, сопряженные с восстановлением сульфата. Гидролиз поступающих извне высокополимерных соединений может осуществляться минорными компонентами сообщества, - бактериями *Thermacetogenium* и другими не сульфат-редуцирующими фирмикутами, а также бактериями других групп, например, *Ignavibacteria*, *Planctomycetes* и *Chloroflexi*, обнаруженными при анализе состава сообщества по варибельным фрагментам генов 16S рРНК. Результаты метагеномного анализа микробного сообщества термальных вод из нефтепоисковой скважины в пос. Белый Яр также будут представлены в докладе.

### МЗ-14. РАЗРАБОТКА БИОИНФОРМАТИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ ДЛЯ АНАЛИЗА ЭВОЛЮЦИИ «СИМБИОТИЧЕСКИХ» ГЕНОВ БАКТЕРИЙ, ОСНОВАННОГО НА ДАННЫХ МЕТАГЕНОМИКИ

*Иголкина А.А.*\*, *Андронов Е.Е.*, *Проворов Н.А.*  
ГНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии (Пушкин), Россия  
\*e-mail: igolkinaanna11@gmail.com

Важнейшим компонентом сигнальной системы, обеспечивающей специфичность клубеньковых бактерий по отношению к бобовым растениям-хозяевам, является Nod-фактор – хитин-подобная молекула, взаимодействующая с растительными рецепторами. Для анализа эволюции генов синтеза Nod-фактора из ризосферной почвы и клубеньков растений-хозяев (*Vicia sativa*, *Lathyrus pratensis*, *Trifolium hybridum*) выделяли штаммы *Rhizobium leguminosarum* и путем высокопроизводительного секвенирования изучали изменчивость первичной структуры гена *nodA*, кодирующего присоединение ацильного остатка к олигохитиновой цепи Nod-фактора. Анализ полученных данных проводился с использованием статистики Fst (для детекции генетического разнообразия), статистики dN/dS (для выявления движущего/стабилизирующего отбора путем сравнения соотношения несинонимических и синонимических замен с единицей) и теста McDonald-Kreitman. Мы использовали современные уточнения статистики dN/dS, следуя которым ее сравнивают в разных группах, что позволяет оценить баланс движущего и стабилизирующего отбора. Анализ метагеномных данных об изменчивости *nodA*-последовательностей показал, что соотношение “синонимичные/несинонимичные” замены и характера отбора, действующего в популяциях, зависит от растения-хозяина и происхождения ДНК-библиотеки (почвенное или клубеньковое). Например, в ДНК-библиотеках клубеньковых популяций каждого из трех рассматриваемых растений (*V. sativa*, *L. pratensis*, *T. hybridum*) были обнаружены генотипы, частота которых в соответствующих почвенных ДНК-библиотеках была значимо ниже, чем в клубеньковых библиотеках. Отличия таких характерных генотипов от референсных последовательностей гена *nodA*, составленных из наиболее типичных для каждой позиции нуклеотидов, заключаются не только в синонимичных заменах, но и в несинонимичных, что свидетельствует о движущем отборе в некоторых участках гена *nodA* клубеньковой популяции ризобий. Так для клубеньковой популяции *V. sativa* найдено 8 таких нуклеотидных позиций гена *nodA*, для *L. pratensis* - 4 позиции, для *T. hybridum* – 5 позиций. Эти позиции не имеют перекрытия в популяциях ризобий, выделенных из разных видов растений. Кроме этого нами статистически выявлены участки гена *nodA*, находящиеся под действием преимущественно движущего, либо преимущественно стабилизирующего отбора, и по-видимому,

выполняющего разные функции при взаимодействии ризобий с растениями. Можно предположить, что при переходе бактерий из ризосферной почвы в клубеньки в популяции действует отбор, форма и направление которого зависят от растения-хозяина. Более подробная характеристика этого отбора – цель наших дальнейших исследований.

### МЗ-15. ГРАФОВАЯ МОДЕЛЬ САХАРНОГО ДИАБЕТА 1 ТИПА

*Рыжков П.А.*\*, *Рыжкова Н.С.*  
НИИ биологии Южного федерального университета (Ростов-на-Дону), Россия  
\*e-mail: rygkov-p@yandex.ru

На сегодняшний день сахарный диабет 1 типа является одним из самых распространенных нарушений функционирования эндокринной системы. Несмотря на большое количество исследований в этой области, механизм развития сахарного диабета 1 типа остается до конца непонятным. СД 1 типа представляет собой мультифакторное заболевание с генетической предрасположенностью, основной вклад (приблизительно 60%) в которую вносит полиморфизм HLA области (Eringsmark Regniil S. и соавт., 2013). Помимо HLA региона было найдено большое количество генетических факторов, ассоциированных с развитием заболевания, включая гены инсулина, PTPN22, CTLA4, IL2Pα и др. (J. Todd, 2007). С увеличением количества полученных в результате исследований данных увеличивается сложность их анализа. По существу, эффективной альтернативы математическому моделированию для решения данной проблемы в настоящее время не существует. Использование теории графов применительно к биологическим системам позволяет проводить анализ причинно-следственных связей между различными составляющими математической модели таких систем и позволяют объединять в рамках одной модели факторы, относящиеся к различным типам и различным уровням организации (Pavlopoulos GA и соавт., 2011). С целью систематизации и анализа известных данных о развитии сахарного типа 1 типа нами была разработана модель СД 1 типа на основе теории графов. Разработанная модель включает 1) базу данных с определенной структурой для хранения информации об узлах и ребрах, служащих для построения графовой модели, а также сопутствующей информации, необходимой удобной визуализации и анализа представленных данных, 2) систему администрирования базы данных для возможности ввода и редактирования информации об узлах и их взаимосвязях, которая служит основанием для графовой модели сахарного диабета 1 типа, и 3) программный модуль визуализации и анализа данных, составляющих графовую модель сахарного диабета первого типа с возможностью удобного масштабирования модели и просмотра информации об отдельных компонентах модели. Графовая модель позволяет анализировать различные факторы, участвующие в развитии сахарного диабета 1-го типа, и их взаимосвязи в рамках одной универсальной модели с помощью наглядного отображения и аналитических функций, включающих подсчет различных метрик, поиск мотивов и кластерный анализ.

### КОМПЬЮТЕРНЫЙ АНАЛИЗ АУКСИН-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ (AUXRE) В ГЕНОМЕ *ARABIDOPSIS THALIANA*

*Миронова В.В.*\*, *Омельяничук Н.А.*, *Левицкий В.Г.*  
ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия  
\*e-mail: kviki@bionet.nsc.ru

Фитогормон ауксин является основным регулятором роста и развития растений. Транскрипционные факторы семейства



ARF обеспечивают ауксин-зависимую регуляцию экспрессии генов. Показано, что ARF специфически связываются с ауксин-чувствительными элементами (AuxREs), имеющих консенсус TGTCTC и расположенных в промоторах генов. Так как такая последовательность встречается в 70% промоторов генов *A. thaliana*, предсказание AuxRE остается актуальной задачей. В данной работе с помощью методов SiteGA и oPWM проведен биоинформатический анализ последовательностей экспериментально-подтвержденных AuxRE. Найденный контекстный паттерн был использован для распознавания AuxRE в геноме *Arabidopsis thaliana*. Потенциальные сайты распределены в геноме *Arabidopsis thaliana* неравномерно - максимальная плотность приходится на последовательности экзонов.

Асимметричное расположение AuxRE было также показано относительно стартов инициации транскрипции. Функциональность потенциальных AuxRE была протестирована на данных по ауксин-чувствительной экспрессии генов, исследованной в восьми экспериментах микроаррэй. В результате исследования было показано, что расположение сайтов относительно старта инициации транскрипции ассоциировано с различными паттернами экспрессии генов в ответ на ауксин. Например, расположение потенциального AuxRE в 5'UTR коррелирует с увеличением экспрессии гена в ответ на высокие дозы ауксина. Работа поддержана грантом РФФИ 12-04-33112-мол-а-вед и грантом фонда "Династия" для молодых биологов.

# ГЕНЕТИКА РАЗВИТИЯ И СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ

## ПЛУРИПОТЕНТНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ КАК ИСТОЧНИК КЛЕТОК КРОВИ

*Хомякова Е.А.<sup>1</sup>, Киселев С.Л.<sup>1</sup>, Лагарькова М.А.\*<sup>1,2</sup>,  
Филоненко Е.С.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва),  
Россия;

<sup>2</sup>НИИ физико-химической медицины ФМБА России (Москва),  
Россия

\*e-mail: lagar@vigg.ru

Исследования, проведенные в области гемопозитической дифференцировки плюрипотентных стволовых клеток (ПСК), позволили получить различные типы клеток крови, включая клетки эритроидного ряда. Однако до конкретного использования эритроидных клеток, дифференцированных из ПСК, в клинической практике, предстоит еще решить ряд вопросов, таких как получение чистых популяций взрослых типов энуклеированных эритроцитов, получение эритроидных клеток без использования неохарактеризованных компонентов и компонентов животного происхождения, использование прямого репрограммирования соматических клеток для получения зрелых эритроцитов и ряд других. В тоже время, разработанные модельные системы эритропоэза человека *in vitro* уже сейчас дают возможность решать фундаментальные проблемы, касающиеся генетики человека, регуляции транскрипции, структуры хроматина и других вопросов. В нашем исследовании была разработана методика дифференцировки плюрипотентных стволовых клеток различного происхождения в клетки эритроидного ряда. Мы проанализировали постадийно процесс дифференцировки и состав клеточных популяций, определили уровни экспрессии глобинов. Разработанная модель дифференцировки более всего соответствует раннему гематопоэзу в желточном мешке и является удобной моделью для изучения раннего онтогенеза человека, а так же механизмов заболеваний крови, в том числе наследственных.

## УПРАВЛЕНИЕ НЕЙРАЛЬНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКОЙ СТРОМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОЙ ТКАНИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

*Павлова Г.В.\*<sup>1</sup>, Ревизицин А.В.*

*ФГБУН Институт биологии гена РАН (Москва), Россия*

\*e-mail: lkorochkin@mail.ru

Наши исследования показали, что инкубация СКЖТ (стромальных стволовых клеток жировой ткани млекопитающих) в среде, содержащей в качестве индукционных факторов BDNF в сочетании с 5-азациитидином, стимулировала появление нейральных характеристик. Индукция нейральной дифференцировки проявлялась в увеличении экспрессии четырех

генов: *Eno2*, *MAP2*, *bcl2-TUBB* и *Nestin*. Индукционное воздействие BDNF было опосредовано рецептором TrkB, мРНК которого было обнаружено в исходной популяции СКЖТ. В ходе экспериментов СКЖТ, продуцирующие зеленый флуоресцентный белок, подвергались индукционному воздействию BDNF и 5-азациитидина, в течение трех дней. Затем эти клетки были инъецированы в стриатум мышей линии Black6. Через 7, 9 и 11 дней на срезах головного мозга исследовали распределение трансплантированных клеток. Через 9 дней многие индуцированные СКЖТ мигрировали в окружающую паренхиму мозга. Контрольные неиндуцированные клетки располагались компактно и не выходили за пределы места введения. В результате исследований было обнаружено, что к одиннадцатому дню неиндуцированные контрольные клетки на срезах мозга отсутствовали, тогда как индуцированные оставались живыми. Полученные данные говорят о том, что воздействие BDNF на фоне 5-азациитидина не только способствует нейральной дифференцировке СКЖТ и повышает экспрессию нейральных генов, но также увеличивает выживаемость (survival) клеток в нервной ткани при трансплантации. Иммуногистохимическое окрашивание срезов, содержащих трансплантированные клетки, показало, что индуцированные вышеуказанным методом СКЖТ после трансплантации экспрессируют даблкортин. При этом трансплантация индуцированных в нейральном направлении СКЖТ стимулировала тропизм собственных нейробластов по направлению к зоне введения. Предварительные эксперименты по трансплантации индуцированных и контрольных неиндуцированных мышечных СКЖТ в стриатум мыши после воздействия инъекции эндотелина 1 показали, что индуцированные клетки в ишемизированном мозге ведут себя намного более активно, чем неиндуцированные. В первом случае наблюдается активная миграция индуцированных клеток в паренхиму мозга. В основном клетки мигрируют вдоль сосудов, но встречаются и свободно мигрирующие клетки. Индуцированные клетки выживают в ишемизированном мозге до 14 суток в то время как неиндуцированные к этому сроку полностью отмирают. Иммуногистохимическая окраска срезов на маркер астроглии GFAP показала, что область мозга, окружающая зону введения индуцированных клеток, менее подвержена глиозу, чем окружение зоны введения неиндуцированных клеток.

## ИСПРАВЛЕНИЕ МУТАНТНОГО ГЕНОТИПА В КЛЕТКАХ КРЫС ЛИНИИ BRATTLEBORO С ПОМОЩЬЮ СОВРЕМЕННЫХ МЕТОДОВ ГЕНОМНОЙ ИНЖЕНЕРИИ

*Нелудьрий А.А.\*<sup>1,2,3</sup>, Стекленева А.Е.<sup>1,2,3</sup>, Васькова Е.А.<sup>1,2,3</sup>,  
Медведев С.П.<sup>1,2,3</sup>, Иванова Л.Н.<sup>1</sup>, Закиян С.М.<sup>1,2,3</sup>*

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН  
(Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Новосибирский научно-исследовательский институт патологии кровообращения им. ак. Е.Н. Мешалкина (Новосибирск), Россия;

<sup>3</sup>ФГБУ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск), Россия

\*e-mail: nemudryu@bionet.nsc.ru

Благодаря развитию геномной инженерии в последние годы появились доступные и эффективные методики редактирования генома. К таким методиками относятся технологии TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nucleases) и CRISPR/Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) открытые у бактерий. Данные системы позволяют специфично вносить двунитевые разрывы в выбранные сайты генома эукариот. Такие разрывы увеличивают частоту гомологичной рекомбинации, при которой происходит обмен участками ДНК между гомологичными районами. С помощью гомологичной рекомбинации возможно заменить мутантный аллель на «здоровый» в индуцированных плюрипотентных стволовых клетках (ИПСК), которые были получены из соматических клеток пациента, страдающего наследственным заболеванием. ИПСК с «исправленным» геномотипом являются аутологичными по отношению к организму пациента и могут быть использованы для клеточной терапии наследственных заболеваний, например, при наследственных формах болезни Паркинсона, амиотрофическом боковом склерозе, мышечных дистрофиях и других заболеваниях, связанных с гибелью клеток определенных типов. В данной работе в качестве модельного объекта для разработки технологии клеточной терапии наследственных заболеваний использованы крысы лабораторной линии Brattleboro, которые являются носителем моногенного наследственного заболевания. Мутация *di/di* (*diabetes insipidus*) в гене гормона аргинин-вазопрессина вызывает развитие несахарного гипоталамического диабета у этих животных. На настоящий момент получены и полностью охарактеризованы с помощью молекулярно-генетических и цитологических методик 8 линий ИПСК крыс Brattleboro и 2 линии ИПСК контрольных крыс WAG, проведен транскрипционный анализ полученных линий. Для увеличения эффективности гомологичной рекомбинации созданы конструкции, экспрессирующие искусственные нуклеазы TALENs и элементы системы CRISPR/Cas9. Исследована способность полученных искусственных нуклеаз вносить двунитевые разрывы в целевые сайты последовательности гена аргинин-вазопрессина. Проведены эксперименты по исправлению мутантного генотипа *di/di* в клетках крыс линии Brattleboro. На следующем этапе данного проекта ИПСК с исправленным генотипом будут использованы для разработки технологии клеточной терапии наследственных заболеваний. Результаты таких исследований могут быть применены для лечения наследственных заболеваний человека.

### ОСОБЕННОСТИ ПРОВЕДЕНИЯ МИКРОИНЪЕКЦИЙ В ЭМБРИОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ

Савченко А.П.

Лаборатория генетических основ клеточных технологий, Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия  
e-mail: ervinrusty@gmail.com

Микроинъекция - простой эффективный физический метод направленной доставки генетического материала в клетку. Пе-

ренос генетического материала в ядра клеток с помощью микроинъекции является удобным и высокоточным инструментом для решения множества задач, связанных с исследованиями в области плюрипотентных эмбриональных и индуцированных стволовых клеток человека и животных. Цель работы - исследование повышения эффективности манипуляции и уменьшения отрицательных эффектов, возникающих непосредственно при инъекции генетического материала в ядра эмбриональных стволовых и индуцированных плюрипотентных клеток человека с использованием микроманипулятора InjectMan NI2 и микроинъектора FemtoJet, Eppendorf.

### ПОЗДНЯЯ РЕПЛИКАЦИЯ ИНАКТИВИРОВАННОЙ X-ХРОМОСОМЫ В ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ ЧЕЛОВЕКА НЕ ЗАВИСИТ ОТ СТЕПЕНИ КОМПАКТИЗАЦИИ ЕЕ ХРОМОСОМНОЙ ТЕРРИТОРИИ

Панова А.В. \*, Некрасов Е.Д., Лазарькова М.А., Киселев С.Л., Богомазова А.Н.

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

\*e-mail: a.v.panova@mail.ru

В женских соматических клетках млекопитающих работает механизм дозовой компенсации X-хромосом. Под этим механизмом подразумеваются эпигенетические изменения, запускающие и поддерживающие транскрипционную инактивацию одной из двух X-хромосом путем формирования факультативного гетерохроматина. В этот процесс входят такие события, как распространение по инактивируемой X-хромосоме некодирующей РНК гена *XIST*, модификации гистонов, метилирование ДНК в генных промоторах, а также переход к репликации в конце S-фазы клеточного цикла. Неактивная X-хромосома формирует в соматических ядрах компактную структуру, называемую тельцем Барра. Предполагается, что именно плотная упаковка может определять позднюю репликацию инактивированной X-хромосомы. Для проверки этой гипотезы мы использовали коллекцию линий плюрипотентных стволовых клеток (ПСК) человека, отличающихся по степени формирования факультативного гетерохроматина неактивной X-хромосомы. Для определения степени конденсации хроматина X-хромосомы мы использовали метод полнохромосомной ДНК-гибридизации *in situ* (FISH) на интерфазных ядрах. Паттерн репликации выявляли с помощью 5-бромо-2-дезоксисуридина (BrdU). Статус инактивации X-хромосомы определяли методом иммуногистохимического окрашивания с антителами к маркам неактивного хроматина – гистоновым модификациям H3K27me3 и H3K9me3. Наличие *XIST*-облака и оценку транскрипционной активности X-хромосом проводили методом РНК-FISH. В работе использовали ПСК человека: эмбриональные стволовые клетки, а также индуцированные плюрипотентные стволовые клетки. Мы показали, что ПСК человека с инактивированной X-хромосомой могут иметь как релаксированную, так и компактную хромосомную территорию неактивной X-хромосомы, то есть механизм поддержания неактивного состояния X-хромосомы в ПСК человека не зависит от степени компактизации хромосомной территории. Инактивированная X-хромосома реплицируется поздно вне зависимости от компактности ее хромосомной территории. Тем не менее, переход X-хромосомы к транскрипционно активному состоянию при репрограммировании соматических клеток сопровождается релаксацией хромосомной территории и сдвигом репликации к началу S-фазы.



## ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК АМЕРИКАНСКОЙ НОРКИ

*Мензоров А.Г.\*<sup>1,2</sup>, Матвеева Н.М.<sup>1</sup>, Хабарова А.А.<sup>1</sup>, Кизилова Е.А.<sup>1,2</sup>, Пристяжнюк И.Е.<sup>1</sup>, Голубица А.Н.<sup>1</sup>, Железова А.И.<sup>1</sup>, Серов О.Л.<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет (Новосибирск), Россия  
\*e-mail: menzorov@bionet.nsc.ru

Возможность репрограммирования генома млекопитающих активно исследуется более полувека. В 1962 году Гёрдон впервые показал возможность репрограммирования генома дифференцированной клетки факторами энуклеированного ооцита. В 2006 Яманака получил индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) мыши из фибробластов с помощью всего лишь четырех транскрипционных факторов: Klf4, Sox2, Oct4 и c-Myc. Получение ИПСК поставило вопрос о полноте репрограммирования: остаются ли активными гены, экспрессирующиеся в исходных фибробластах? И насколько профиль экспрессии генов ИПСК соответствует эмбриональным стволовым (ЭС) клеткам, которые в данном случае являются «стандартом». В настоящее время ИПСК получены для десятков видов животных, однако ЭС клетки – менее чем для двадцати. В 1993 и 2007 годах в нашей лаборатории были получены ЭС клетки ценного пушного зверя, американской норки (*Neovison vison*). Это создало уникальную возможность сравнить индуцированные и «настоящие» плюрипотентные клетки. Для получения ИПСК американской норки мы использовали трансдукцию эмбриональных фибробластов норки лентивирусами LeGO, несущими репрессирующие транскрипционные факторы человека: KLF4, SOX2, OCT4 и C-MYC. Культивирование ИПСК проводили в условиях для ЭС клеток норки. Через две недели после обработки лентивирусами мы отбирали колонии морфологии ЭС клеток норки – состоящие из крупных клеток с жировыми включениями. Из 28 первичных колоний мы выбрали 23, из которых получили линии ИПСК. Все линии имели диплоидное модальное число хромосом. Мы показали присутствие нескольких генов-маркеров плюрипотентности: Sox2 и Oct4 (ОТ-ПЦР анализ), Oct4 и Nanog (иммуноцитохимический анализ). Для KLF4 было показано замолкание введенного в геном трансгена. *In vivo* тест на плюрипотентность – формирование тератом в иммунодефицитных мышцах – проводили для десяти линий ИПСК. Клетки девяти линий сформировали опухоли, из них семь образовали тератомы с клеточными типами – производными всех трёх зародышевых листков. Таким образом, мы успешно получили и охарактеризовали линии ИПСК американской норки. В дальнейшем планируем провести сравнительный анализ транскриптомов эмбриональных фибробластов, ЭС клеток и ИПСК норки для ответа на вопрос о полноте репрограммирования генома эмбриональных фибробластов норки.

## ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ГЕНОМНЫХ МУТАЦИЙ У ЧЕЛОВЕКА

*Толмачева Е.Н.\*<sup>1</sup>, Кашишварова А.А., Скрабин Н.А., Лебедев И.Н.*  
ФГБУ НИИ медицинской генетики СО РАМН (Томск), Россия  
\*e-mail: kate.tolmacheva@medgenetics.ru

Геномные мутации играют важную роль в нарушении эмбриогенеза - около половины спонтанных абортусов имеют аномалии хромосомного набора. Несмотря на уникальность генного состава каждой хромосомы человека, фенотипические проявления трисомий и моносомий имеют между собой больше

общего, чем специфического. У культивируемых эмбриональных фибробластов эмбрионов с хромосомными нарушениями отмечали изменение морфологии, низкий пролиферативный потенциал, снижение образования коллагена и скорости передвижения, отсутствие ориентированного роста. Этот феномен, по предложению Гринберга, получил название «клеточный синдром». Была высказана гипотеза о существовании канализированного механизма в реализации хромосомного дисбаланса. Возможно, что нарушение эпигенетического статуса генома вследствие присутствия дополнительной хромосомы и является таким механизмом. На основе собственных результатов и данных литературы мы провели сравнительную характеристику профиля метилирования цитотрофобласта хориона эмбрионов с нормальным кариотипом и трисомиями хромосом 16 и 21 на базе платформы «Infinium HumanMethylation27 BeadChip» («Illumina», США). Обе трисомии практически всегда обусловлены нерасхождением хромосом в мейозе у матери. Соответственно, запуск всей программы индивидуального развития, в том числе регулируемой эпигенетическими механизмами, начинается с трисомного кариотипа в зиготе. После проведения иерархического кластерного анализа мы выяснили, что имеются множественные различия профиля метилирования исследованных CpG-сайтов нормальных и анеуплоидных эмбрионов. В случае трисомии 16 был выявлен 1031 дифференциально метилированный ген (ДМГ), а для трисомии 21 – 404 ДМГ. Дифференциально метилированные гены были локализованы на всех хромосомах, но в образцах с трисомией хромосомы 16 ДМГ на самой хромосоме 16 было статистически значимо больше, чем на других хромосомах ( $p < 0,05$ ), тогда как для трисомии 21 такой закономерности не наблюдалось. Большая часть ДМГ была гиперметилирована, причем гиперметилирование регистрировали в промоторных регионах генов с высоким содержанием CpG-островков, что указывает на возможное снижение уровня экспрессии этих генов в исследованных тканях. Функциональный анализ ДМГ обеих трисомий показал, что они задействованы в процессах развития многоклеточного организма и анатомических структур, эмбриогенезе, адгезии клетки и т. д. Таким образом, гиперметилирование промоторов большого числа генов, участвующих в ключевых процессах раннего эмбрионального развития, может объяснять наблюдаемые у эмбрионов с трисомиями 16 и 21 нарушения морфогенеза по типу гетерохронии, которая характерна для клеточного синдрома в случаях геномных мутаций.

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ДНК-СОДЕРЖАЩИХ ОРГАНЕЛЛ У РАСТЕНИЙ: ПЕРЕНОС ГЕНОВ И РЕДОКС-СИГНАЛИНГ

*Кулинченко М.В.<sup>1</sup>, Тарасенко В.И.<sup>1</sup>, Гарник Е.Ю.<sup>1</sup>, Потапова Т.В.<sup>1</sup>, Клименко Е.С.<sup>1</sup>, Зубо Я.О.<sup>3</sup>, Бернер Т.<sup>3</sup>, Диетриш А.<sup>2</sup>, Константинов Ю.М.\*<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Сибирский Институт физиологии и биохимии растений СО РАН (Иркутск), Россия;

<sup>2</sup>Институт молекулярной биологии растений (Страсбург), Франция №

<sup>3</sup>Университет Гумбольдта (Берлин), Германия

\*e-mail: yukon@sifibr.irk.ru

Доклад посвящен проблеме генетических взаимодействий ядра, хлоропластов и митохондрий у высших растений на структурном (горизонтальный перенос генов) и функциональном (редокс-сигналинг) уровнях. Известно, что биогенез отдельных клеток и всего растительного организма в целом возможен благодаря координированной экспрессии геномов ядра, хлоропластов и митохондрий. В соответствии с современными представлениями комплексный механизм интеграции геномов трех типов ДНК-содержащих органелл в единую генетическую

систему клетки включает возникший еще на ранних этапах эволюции высших растений механизм обмена генетическим материалом между органеллами («внутриклеточный перенос генов») и физиологический механизм редокс-регуляции экспрессии генов фотосинтеза и окислительного фосфорилирования (OXPHOS). В результате длительной коэволюции хлоропластов и митохондрий в растительной клетке возникла тесная кооперация генетических систем этих органелл, обеспечивающая наиболее эффективное протекание процессов фотосинтеза и связанных с ним метаболических процессов. Доклад состоит из двух частей. В первой части будет детально рассмотрено состояние исследований природного механизма горизонтального переноса генов в митохондрии растений. Полученные недавно экспериментальные данные свидетельствуют в пользу возможного существования альтернативных механизмов митохондриального транспорта молекул ДНК, различающихся по своей структурной организации и размеру. Сравнительно малоизученным, но явно требующим большего внимания, остается вопрос о распространенности и генетической роли выхода (экспорта) ДНК из митохондрий. В целом, анализ структурно-функциональной организации митохондриальных геномов растений показывает, что в отличие от группы низших растений горизонтальный перенос генов в митохондрии высших растений играет важную роль в возникновении уникальной для каждого растительного вида структуры митохондриального генома. В хлоропластах в отличие от митохондрий механизм переноса ДНК внутрь органелл не обнаружен. Природный механизм переноса ДНК в митохондрии («импорт ДНК») существует не только у растений, но обнаружен также у дрожжей и млекопитающих. Во второй части доклада анализируются результаты исследований роли редокс-сигналинга в регуляции экспрессии митохондриальных, хлоропластных и кодирующих белки митохондриальной и хлоропластной локализации ядерных генов. Совокупность полученных к настоящему времени результатов позволяет сделать заключение о том, что редокс-состояние дыхательной цепи митохондрий в растениях способно оказывать регуляторное влияние на транскрипционную активность митохондриальных, хлоропластных и ядерных генов.

#### РОЛЬ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ В СМЕНЕ ПРОГРАММЫ РАЗВИТИЯ КЛЕТКИ ПРИ ИНИЦИАЦИИ БОКОВОГО КОРНЯ В АПИКАЛЬНОЙ МЕРИСТЕМЕ РОДИТЕЛЬСКОГО КОРНЯ ТЫКВЕННЫХ

*Ильина Е.Л.\*<sup>1</sup>, Семенова В.А., Демченко Н.П., Демченко К.Н.*

*Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН (Санкт-Петербург), Россия*

\*e-mail: el.ilina1984@gmail.com

Выяснение клеточных и молекулярно-генетических механизмов ветвления тела высших растений является актуальной проблемой биологии развития растений. Исследования структурных и физиологических механизмов, определяющих ветвление главного корня, проводились, в основном, на *Arabidopsis*, для которого характерна инициация боковых корней (БК) выше зоны растяжения. Однако механизмы, определяющие ветвление корня, остаются малоизученными у видов с инициацией БК в апикальной меристеме родительского корня. Такой тип инициации БК в зоне пролиферирующих клеток апикальной меристемы родительского корня характерен для растений семейств Тыквенные, Гречишные и некоторых водных растений. С использованием методики агробактериальной трансформации Тыквенных (Pina et al., 2012) была успешно проведена локализация активности промоторов генов *WOX5* (меристем-специфичный

транскрипционный фактор), *SCR* (генетический маркер эндодермы) и *CR4* (рецептор-подобная киназа) *Arabidopsis* и огурца (*Cucumis sativus*) в тканях корней кабачка (*Cucurbita pepo*) по GUS-окрашиванию. Паттерн экспрессии *WOX5 Arabidopsis* и огурца оказался сходным. Максимум экспрессии *WOX5* в примордиях БК появляется только в начале зоны растяжения и приурочен только к производным перицикла. Вероятно, функции *WOX5* в развитии БК кабачка связаны с закладкой инициальной проводящих тканей в нем. Данные свидетельствуют о консервативности регуляции экспрессии и функции данного гена у цветковых растений. Максимум экспрессии *CsCR4* был локализован в зоне чехлика, меристеме родительского корня, а также во всех примордиях. Паттерн экспрессии *CsCR4* в тканях кончика кабачка отличался от такового у *Arabidopsis*. Распределение активности промоторов *ACR4* и *CsCR4* значительно отличается. Вероятно, *CsCR4* непосредственно вовлечен в позиционирование примордиев БК и функционально аналогичен *ACR4*. Для изучения особенностей клеток перицикла и эндодермы, вовлекаемых в формирование примордия БК в меристеме родительского корня локализовали экспрессию *SCR*. Клетки эндодермы, вовлекающиеся в инициацию примордия БК, не теряли способность к экспрессии *SCR*, что позволяет предположить возможность сохранения программы развития клетки, специфичной для эндодермы на начальных этапах формирования БК. В докладе обсуждаются механизмы смены программы развития клеток корня, вовлекаемых в формирование примордия БК в апикальной меристеме родительского корня кабачка. Работа выполнена при финансовой поддержке Программ Президиума РАН и РФФИ (11-04-02022-а, 12-04-32002-мол\_а, 14-04-01413-а, 13-04-40344-Н КОМФИ).

#### ВЫЯВЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ГЕНОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ РАЗВИТИЕ СОЦВЕТИЯ ПШЕНИЦЫ

*Добровольская О.Б.\*<sup>1</sup>, Мартинек П.<sup>2</sup>, Попова О.М.<sup>1</sup>, Сальс Ж.<sup>3</sup>, Красников А.А.<sup>4</sup>, Лайкова Л.И.<sup>1</sup>, Салина Е.А.<sup>1</sup>*

*<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН*

*(Новосибирск), Россия;*

*<sup>2</sup>Агротест Фито Лтд. (Кромержиж), Чехия;*

*<sup>3</sup>INRA (Клермон-Ферран), Франция;*

*<sup>4</sup>ФГБУН Центральный сибирский ботанический сад СО РАН (Новосибирск), Россия*

\*e-mail: oxanad@bionet.nsc.ru

Особенности развития соцветия мягкой пшеницы *T. aestivum* L., колоса, отражаются на морфологии колоса и могут оказывать непосредственное влияние на элементы продуктивности этой важной сельскохозяйственной культуры. Цель настоящей работы - выявление и изучение генов, контролирующих развитие колоса на стадии формирования колоска с использованием серии генетически независимых мутантных линий пшеницы. Все изучаемые мутанты характеризуются развитием дополнительных колосков в уступах колосового стержня или многоколосковостью. В результате молекулярно-генетического картирования было установлено, что основной вклад в генетический контроль изучаемого признака вносит генетический локус хромосомы 2DS. На основании синении был установлен генкандидат, ортолог гена *FZP* риса - *WFZP-D*; определена первичная структура данного гена у мутантных линий и линий со стандартной морфологией колоса. Обнаружено, что мутантный фенотип связан с миссен-, нонсенс- и нуль-мутациями данного гена у изучаемых мутантов. При помощи световой и электронной микроскопии показано, что данные мутации приводят к аномалиям развития колоса, связанным с развитием эктопических колосковых меристем на месте цветковых меристем.

**ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ  
НЕРЕГУЛЯРНЫХ МЕРИСТЕМ****Додуева И.Е., Осипова М.А., Творогова В.Е.,  
Виноградова А.Г., Ганчева М.С., Лутова Л.А.\***Санкт-Петербургский государственный университет  
(Санкт-Петербург) Россия

\*e-mail: la\_lutova@mail.ru

Особенностью развития растений является их высокая способность к регенерации, связанная со способностью клеток растений возобновлять меристематическую активность и давать начало новым тканям и органам. Возобновление пролиферации клеток при культивировании *in vitro*, как правило, индуцируется добавлением в среду гормонов ауксина и цитокинина. В норме, соотношение концентрации этих двух гормонов в тканях растений определяет набор транскрипционных факторов, регулирующих программы развития корня и побега. В наших работах для изучения механизмов развития меристем *de novo* мы используем три основных модели: соматический эмбриогенез в культуре *in vitro* у линии *Medicago truncatula 2HA*, развитие симбиотических клубеньков у бобовых растений, а также развитие опухолей у инбредных линий редиса. Основное внимание уделено изучению роли транскрипционных факторов семейства *WOX*, которые, как показано в последнее время, являются регуляторами, общими для различных типов меристем. В докладе рассматриваются основные данные о роли транскрипционных факторов *WOX* в контроле пролиферации клеток в апикальных меристемах, а также обсуждаются данные об их участии в формировании нерегулярных меристем *de novo* на изучаемых моделях.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ мол а 12-04-32021, 13-04-02140, НИР СПбГУ 1.38.67.2011, гранта Президента РФ по поддержке Ведущих научных школ НШ-5345.2012.4, ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013г (Соглашение №8045 от 20.07.2012г.)

**РЕГУЛЯЦИЯ МОРФОГЕНЕЗА СИМБИОТИЧЕСКИХ  
КЛУБЕНЬКОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.),  
ВЫЯВЛЯЕМАЯ ПОСРЕДСТВОМ СЕКВЕНИРОВАНИЯ  
ТРАНСКРИПТОМА****Жуков В.А.\*<sup>1</sup>, Жернаков А.И.<sup>1</sup>, Еришов Н.И.<sup>2</sup>,  
Штратникова В.Ю.<sup>3</sup>, Пеков Ю.А.<sup>3</sup>, Малахов С.Г.<sup>3</sup>,  
Борисов А.Ю.<sup>1</sup>, Тихонович И.А.<sup>1</sup>**<sup>1</sup>Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии  
РАСХН (Санкт-Петербург–Пушкин), Россия;<sup>2</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН  
(Новосибирск), Россия;<sup>3</sup>Инновационно-технологический центр «Биологически активные  
соединения и их применение» РАН (Москва)

\*e-mail: zhukoff01@yahoo.com

Современные технологии «секвенирования следующего поколения» позволяют проводить тотальный анализ экспрессии генов даже у видов растений с недостаточной информацией о структуре генома. К такому относится горох посевной, важная сельскохозяйственная культура и модельный объект симбиотической генетики. Преимуществом использования гороха для изучения развития симбиозов является наличие уникальных мутантов с нарушениями органогенеза клубеньков. Анализ экспрессии генов путем секвенирования транскриптома у таких мутантов предоставляет великолепную возможность для изучения генно-метаболических сетей при клубенькообразовании. В работе были изучены транскрипционные профили микроРНК и мРНК путем секвенирования на приборе Illumina

GA II X трех вариантов библиотек кДНК: (1) из корней растительной линии «дикого типа» SGE, (2) клубеньков линии SGE и (3) клубеньков мутантной линии SGEarp (*cochleata*) с нарушением органогенеза клубеньков. Путем сравнения с базой данных miRBase, версия 20 (<http://www.mirbase.org/>), было идентифицировано более 100 консервативных последовательностей микроРНК гороха. Для ряда микроРНК показана разница в уровне экспрессии в изученных библиотеках. Также проведен поиск транскриптов-мишеней дифференциально экспрессирующихся микроРНК с помощью программы psRNAtarget. На основании объединенных данных секвенирования трех вариантов библиотек кДНК с использованием программы Trinity (<http://trinityrnaseq.sourceforge.net/>) были собраны 50703 контига, соответствующие генам гороха, экспрессирующимся в корнях и клубеньках. В настоящее время проводится аннотирование выявленных вариантов транскриптов, классификация их по функциональным группам и анализ дифференциальной экспрессии. Исследование представляет собой первый пример анализа дифференциальной экспрессии генов гороха у мутанта с нарушениями органогенеза клубеньков. Результаты работы являются основой построения моделей генно-метаболической сети, контролирующей развитие азотфиксирующих клубеньков бобовых растений.

Работа выполнена при поддержке Совета по грантам Президента РФ (НШ-337.2012.4), Министерства образования и науки (соглашения № 8056 и № 8109) и РФФИ (12-04-01687-а, 12-04-32126\_мол-а, 13-04-01702-а и 13-04-01703-а).

**АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В СИСТЕМАХ  
СО СЛОЖНОЙ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ СТРУКТУРОЙ****Клепикова А.В.\*<sup>1</sup>, Логачева М.Д., Пенин А.А.**

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (Москва), Россия

\*e-mail: annklepikova@gmail.com

Сравнение уровней экспрессии генов между изучаемыми объектами с использованием высокопроизводительных методов (RNA-seq, microarray) стало одним из основных инструментов генетики и геномики. В результате их использования происходит идентификация дифференциально экспрессирующихся генов (с технической точки зрения – генов, различающихся по представленности мРНК в сравниваемых пробах). Анализ выявленных генов позволяет получить полную картину функционирования генетических сетей в образцах и проанализировать причины, лежащие в основе различий между ними. Однако детектируемая разница в количестве мРНК может быть вызвана не только изменением уровня экспрессии гена в пределах одной ткани, но и изменением в образце соотношения тканей и/или клеток, в которых экспрессируется или не экспрессируется этот ген. Такие явления часто наблюдаются при сравнении гетерогенных образцов со сложным клеточным и/или тканевым составом (цветки, плоды, опухоли и т.д.) При анализе таких объектов возможно возникновение двух типов ошибок: 1) ложноположительных, когда изменение экспрессии гена связано с изменением в образце доли ткани, в которой он экспрессируется; 2) ложноотрицательных, при которых ген не идентифицируется как дифференциально экспрессируемый в результате обратного-пропорционального изменения в образце доли ткани, в которой он экспрессируется. Для решения этой проблемы нами был разработан алгоритм, позволяющий различать детектируемые изменения количества мРНК, вызванные изменением соотношения тканей от изменения экспрессии гена в пределах одной ткани. Работа алгоритма основана на сопоставлении данных по экспрессии генов в изучаемых образцах с систематизированными данными по дифференциальной экспрессии генов в



разных тканях и органах, полученных с использованием высокопроизводительных методов. С использованием этого метода были проанализированы полученные нами данные по экспрессии генов у мутантов *Arabidopsis thaliana* контролирующего определение типа органа цветка (*ag-1*, *ap1-1*, *ap2-7*, *ap3-6*, *pi-1*), характеризующихся существенными изменениями в морфологии. Было показано, что при большом числе генов имеющих значимое различие в количестве мРНК в образцах (от 1596 для *ap1-1* до 4499 для *ap3-6*), только для трети из них (от 597 для *ap1-1* до 1310 для *ap3-6*) разница возникает в результате изменения уровня экспрессии гена в пределах одной ткани. Сравнительный анализ дифференциально экспрессирующихся генов у мутантов позволил выявить гены, участвующие в генетическом контроле развития каждого органа цветка.

Работа поддержана грантом РФФИ 12-04-33032\_мол\_а\_вед.

#### ВЛИЯНИЕ МУТАЦИЙ *ERECTA* И *TERMINAL FLOWER* НА ПРЕОБРАЗОВАНИЕ СТРУКТУРЫ РЕПРОДУКТИВНЫХ ПОБЕГОВ У *ARABIDOPSIS THALIANA*

*Харченко В.Е.\**, *Гелюта И.В.*, *Березенко Е.С.*, *Черская Н.А.*, *Фоменко Е.И.*

Луганский национальный аграрный университет (Луганск), Украина

\*e-mail: viktoriaharchenko@rambler.ru

*Arabidopsis thaliana* является популярным объектом генетических исследований. По нашим наблюдениям, у растений *A. thaliana* мутации *erecta* и *terminal flower* преобразуют структуру репродуктивных побегов – сокращая ее, но этот эффект достигается разными способами. Мутация *erecta* сокращает длину междоузлий между листьями побега ( $p > 0.01$ ) на 34.5%, по сравнению с исходным экотипом *Landsberg*. Мутация *ifl1*, по сравнению с исходным экотипом, приводит к редукции: междоузлий между листьями (на 72%), междоузлий в соцветии между цветками, сокращает длину цветоножек и общее число цветков в соцветии. Таким образом, мутация *erecta* способствует компактизации репродуктивных побегов посредством отрицательной девиации, а мутация *terminal flower* посредством отрицательной девиации и отрицательной анаболии. Дегенерация структуры главного побега, которая наблюдается под влиянием мутаций *erecta* и *terminal flower*, а на соподчиненных побегах, повторяющих его структуру в уменьшенном масштабе, она усугубляется. Под влиянием условий среды, степень проявления дегенерации структуры побега может варьировать, но тенденции преобразования структуры репродуктивного побега сохраняются. Эти результаты могут быть полезны при моделировании развития структуры репродуктивных побегов под влиянием генов и пониманием механизмов преобразования побегов в процессе эволюции

#### С4-01. АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В АНОМАЛЬНЫХ ПЕРЕДНИХ КОНЕЧНОСТЯХ ХИМЕРНЫХ ЭМБРИОНОВ, ПОЛУЧЕННЫХ С GFP-МАРКИРОВАННОЙ ЛИНИЕЙ ЭСК МЫШИ

*Кизилова Е.А.\*<sup>1,2</sup>*, *Белокрылова Д.О.<sup>2</sup>*, *Голубица А.Н.<sup>1</sup>*, *Железова А.И.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>Новосибирский национальный исследовательский государственный университет (Новосибирск), Россия

\*e-mail: pinus@bionet.nsc.ru

Изучение *in vivo* дифференцировки эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) высоко актуально в настоящее время. Ранее

нами было показано, что у экспериментальных первичных ЭСК-химер мыши возникают многочисленные аномалии дистальных отделов конечностей. Анализ транскриптома в задних аномальных конечностях химер E17 позволил выявить гены, экспрессия которых существенно изменяется при тератогенезе указанного типа. Целью данной работы был анализ транскриптома в передних конечностях химер E17, полученных при инъекции околотетраплоидных GFP-маркированных ЭСК мыши генотипа 129/Ola в бластоцисты генотипа C57BL. В опытную группу вошли химеры с сильной полидактилией и синдактилией и химеры, у которых тератогенный эффект наблюдался как слабый дисморфоз. Контролем служили конечности интактных E17 эмбрионов C57BL. Анализ проведен на микроматрице MouseRef-8 Illumina (ЗАО «Геноаналитика», Москва). При  $p < 0.001$  у всех химер показано значительное изменение уровня экспрессии 64-101 гена. 27 генов показывают подавление экспрессии (до 0,3-0,6) во всех образцах. Уровень экспрессии остальных 73 выделенных генов увеличен от 1,6 до 62 раз. Для всех химер показана активация экспрессии (2-62 раза) 11 генов: *Dmkn*, *Hnrn*, *Krt10*, *Krt10*, *Lor*, *Ly6d*, *Ly6g6c*, *My11*, *Stfa1*, *Them5* и *Calm4*, а также фрагментов 2300003P22Rik (3-11 раз) и 1110014K05Rik (13-18 раз). Гены *Dmkn*, *Ly6d* и *Calm4* входят в аналогичный список, полученный нами ранее для аномальных задних конечностей. Увеличена экспрессия генов, участвующих в гистогенезе мышц, кожи, хряща, кости, соединительной и нервной тканей. Увеличена экспрессия фрагментов 2200001I15Rik и 2310061G07Rik. Выявленное нами увеличение экспрессии гена *My14* отмечено ранее в тетраплоидных бластоцистах мыши, используемых в технологии эмбриональной комплементации (Kawaguchi 2009). Не отмечено изменения экспрессии генов *Shh*, *GLI3*, *HOXD-13*, *HOX-7.1* и *Alx-4*, мутации в которых ранее были описаны как причина син- и полидактилии. Используемая нами линия ЭСК имела большую долю (до 25%) клеток с околотетраплоидным кариотипом. Мы полагаем, что наблюдаемый тератогенный эффект связан с тем, что в морфогенезе конечности химеры участвуют потомки ЭСК с измененной ploidy и/или анеуплоидные клетки. Полученные результаты позволят в дальнейшем выявить основные гены и контролируемые ими метаболические пути, задействованные в тератогенных процессах, нарушающих морфогенез конечностей у млекопитающих.

Работа поддержана РФФИ (проект 09-04-01369-а)

#### С4-02. КОНСТРУИРОВАНИЕ ПЕРВИЧНЫХ (ЭМБРИОНАЛЬНЫХ) ХИМЕР С ОКОЛОГЕКСАПЛОИДНЫМИ ГИБРИДНЫМИ КЛЕТКАМИ МЫШИ

*Голубица А.Н.\*<sup>1</sup>*, *Железова А.И.<sup>1</sup>*, *Хабарова А.А.<sup>1</sup>*, *Кизилова Е.А.<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>Новосибирский национальный исследовательский государственный университет (Новосибирск), Россия

\*e-mail: gan@bionet.nsc.ru

В современном понимании механизмов раннего развития млекопитающих большую роль играет изучение роли ploidyности. В данной работе выполнена оценка плюрипотентности *in vivo* высокоплоидного гибридного клона Tef-t8, полученного ранее (Kruglova et al., 2010) слиянием GFP-маркированных диплоидных эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) линии E14Tg2aSc4TP6.3 (Pratt et al. 2000) с тетраплоидными эмбриональными фибробластами мыши линии DD/c. Большая часть (98%) клеток клона Tef-t8 имеет около-гексаплоидный (106-120) хромосомный набор. Они GFP-позитивны, близки к фибробластам по ростовым характеристикам, клеточной

морфологии, уровню метилирования и набору клеточных маркеров (Kruglova et al., 2010). Для *in vivo* оценки плюрипотентности клона Tef-t8 мы использовали два базовых подхода: (1) продолжительное культивирование химерных бластоцист и (2) собственно тест на химеризм в формате *in utero* (Кизилова 2013). Химерные эмбрионы получали, используя инъекционный протокол. Анализ локализации введенных клеток показал, что гибридные окологексаплоидные клетки заселяют внутреннюю клеточную массу интактной бластоцисты мыши генотипа C57BL/6J существенно хуже, чем гибридные околотетраплоидные клетки (Kruglova et al., 2008) и контрольные диплоидные ЭСК. Для оценки плюрипотентности *in utero* мы трансплантировали 50 бластоцист, инъецированных клетками клона Tef-t8, пяти реципиентным самкам, от которых на сроке 12 дpc получили 29 плодных камер. Только 2 эмбриона, причем оба – нежизнеспособные, были химерными. Опираясь на низкую частоту события (7%) и на слабое присутствие маркированных клеток в эмбриональных и экстраэмбриональных тканях, можно сделать заключение о низкой плюрипотентности клеток субклона Tef-t8 в условиях *in vivo*. Таким образом, мы показали, что принципиального запрета на эмбриональную интеграцию высокоплоидных гибридных клеток с диплоидными клетками интактного эмбриона мыши не существует. Окологексаплоидные гибридные клетки могут включиться в зародышевые листки и провизорные органы. Однако такие химерные эмбрионы нежизнеспособны. Плюрипотентность окологексаплоидных гибридных линий в условиях *in vivo* значительно ниже, чем у аналогичных 4n гибридных линий ЭСК. По всей видимости, гибридные клетки, плоидность которых выше значения 4n, не способны давать живых сбалансированных химер. Работа поддержана РФФИ (проект 09-04-01369-а)

#### C4-03. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОЛА У ПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Трухина А.В.\*,<sup>1</sup>, Лукина Н.А.<sup>2</sup>, Ваккерова-Коузова Н.Д.<sup>1</sup>, Некрасова А.А.<sup>1</sup>, Смирнов А.Ф.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологии (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра цитологии и гистологии (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: trukhina\_ant@mail.ru

Одним из самых удивительных процессов в развитии животных является становление пола у отдельной особи. Большой вклад в этот процесс вносят внутренние (хромосомный набор, гормональная регуляция) и внешние факторы (особенности окружающей среды). В настоящее время становится все более очевидным разнообразие механизмов детерминации и дифференцировки пола у позвоночных животных. Рассмотрение различных таксономических групп животных позволило выявить два основных механизма детерминации пола: хромосомный механизм или средовой. Птицы и млекопитающие характеризуются генетической детерминацией пола, в то время как у крокодилов пол зависит от температуры окружающей среды. У ящериц, змей, черепах и костных рыб описаны все возможные механизмы определения пола. Генетическая детерминация пола представлена двумя системами: с гетерогаметностью у самцов (млекопитающие, дрозофила) или у самок (птицы, шелкоичный червь). Обе системы генетического определения пола встречаются у амфибий. Механизмы генетической детерминации пола у млекопитающих, дрозофилы и нематоды различны, хотя у всех трех групп гетерогаметными являются самцы. Так, у дрозофилы и нематоды в качестве пускового сигнала для направленного развития пола используется число X хромосом в ядре и незначительная роль Y хромосомы. У рыб, амфибий и

рептилий феномен гетерогаметности встречается относительно редко, и хромосомный гетероморфизм находится на зачаточном уровне. Ключевые полоопределяющие гены у медаки (*dmy*) и шпорцевой лягушки (*dm-w*) связаны с половыми хромосомами и родственны гену *dmrt1* птиц. Другие недавно описанные у рыб гены (*amhy*, *gsdf*, *amhr2* и *sdv*) не кодируют факторы транскрипции в отличие от *sry* и *dmrt1* и особенности их молекулярного эффекта не ясны. У рыб детерминация пола особенно пластична и проявляется в наличии большого количества гермафродитных видов. У амфибий функционально значимыми для развития пола являются факторы контроля стероидогенеза (продукты генов *cyp17*, *cyp19*), а у черепах, крокодилов и ящериц активность фермента ароматазы и ряда генов (*dmrt1*, *sfl*, *amh*, *sox9*) зависит от температуры окружающей среды. Кроме того, у птиц и млекопитающих описан эпигенетический контроль и эффект дозовой компенсации для ряда полоопределяющих генов. Однако, не смотря на успехи в генетике развития пола, до сих пор не раскрыта тайна роли генов, расположенных в аутосомах.

#### C4-04. ВЛИЯНИЕ НЕДОСТАТОЧНОГО ДЕЙСТВИЯ ЭСТРОГЕНОВ НА РАЗВИТИЕ ГОНАД У ДОМАШНЕЙ КУРИЦЫ (*GALLUS GALLUS OMESTICUS*)

Некрасова А.А.\*, Трухина А.В., Лукина Н.А., Ваккерова-Коузова Н.Д., Смирнов А.Ф.

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

\*e-mail: nariel83@mail.ru

Мы представляем результаты экспериментальной инверсии пола у самок курицы с помощью летрозолола и тамоксифена. Эффект влияния ослабленного действия эстрогенов на развитие гонад эмбрионов курицы оценивали на основании анатомических, гистологических и цитологических критериев. Генетический пол контрольных и экспериментальных цыплят определяли с помощью ПЦР. Был показан различный эффект летрозолола и тамоксифена на развитие женских и мужских гонад. Также было отмечено, что ингибирование ароматазы и соответственно уменьшение доли производимого эстрогена фолликулярными клетками гонады не приводит к блоку перехода оогониев в профазу мейоза. Мы предполагаем, что ретиноидная кислота и эстрогены имеют разные механизмы влияния на созревание оогоний. Из базы данных NCBI нами были выявлены белки и нуклеопротенины, которые взаимодействуют с эстрогеновым рецептором 1, и составлены физические карты расположения их генов в геноме человека и курицы. Анализ генов показал, что среди них нет ни одного хорошо изученного полоопределяющего гена.

#### C4-05. ПЛЕЙОТРОПНЫЙ ЭФФЕКТ ГЕНА *TAENIATA* НА РАЗВИТИЕ РАСТЕНИЙ *ARABIDOPSIS THALIANA* – РЕЗУЛЬТАТ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С ГЕНАМИ - РЕГУЛЯТОРАМИ СТВОЛОВОСТИ

Карпенко О.Ю.\*, Ежова Т.А.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (Москва), Россия

\*e-mail: karpoks@mail.ru

Мутация *taeniata* (*tae*) из коллекции кафедры генетики МГУ вызывает существенные изменения строения листьев, которые связаны с эктопической пролиферацией клеток листовой меристемы. На листьях образуются дополнительные лопасти и почки, что обусловлено повышенным уровнем экспрессии генов *KN1* и *KN6*. Показано, что ген *TAE* комплементарно

взаимодействует с негативным регулятором стволости - геном *AS2*, который вместе с геном *ASI* подавляет экспрессию гомеобоксных генов *KN1*, *KN2*, *KN6* и *STM* в развивающихся листьях. Взаимодействия *TAE* с геном *CLV2* - негативным регулятором *WUS* при развитии розетки листьев – не выявлено. Помимо изменения структуры листьев у мутанта *tae* наблюдается изменение строения цветка. Основные изменения касаются формы органов и их числа. Путем анализа двойных мутантов показано, что ген *TAE* в цветке комплементарно взаимодействует с еще одним негативным регулятором стволости – геном *AG*, который контролирует развитие репродуктивных органов и, одновременно, терминирует пролиферацию флоральной меристемы, подавляя в ней экспрессию гена *WUS*. У двойного мутанта *tae ag-1* наблюдали не только характерные для *ag-1* черты строения цветка (гомеозисные замены репродуктивных органов на органы околоцветника и формирование «многоэтажных» цветков в связи с продолжающейся пролиферацией флоральной меристемы), но и новые особенности. Флоральная меристема двойного мутанта приобретала свойства побеговой меристемы и в пазухах чашелистиков формировала новые флоральные меристемы. В результате цветок становился многократно ветвящимся. Ранее нами показано, что ген *TAE* участвует в регуляции времени зацветания, поддерживая активность экспрессии *AP1* и *LFY*, которые играют ключевую роль в приобретении меристемой флоральной идентичности. Образование ветвящихся цветков у двойного мутанта *tae ag-1* не связано с функцией гена *TAE* в регуляции перехода к цветению, поскольку чашелистики *tae ag-1* не приобретали черты листьев. Сходный фенотип описан нами ранее у мутанта *ag-1* на фоне нарушений полярного транспорта ауксина (у двойного мутанта *ag-1 pid*). Анализ экспрессии трансгена *DR5::GUS* в растениях мутанта *tae* показал накопление активного ауксина в листьях розетки, что также характерно для одиночных мутантов с нарушением систем транспорта ауксина. Полученные данные свидетельствуют о том, что влияние гена *TAE* на экспрессию генов стволости может быть обусловлено его участием в контроле транспорта ауксина.

Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-00122.

#### С4-06. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕТЕРМИНАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ОДНОПОЛОГО ЦВЕТКА

**Солдатова О.П.**

Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова (Москва), Россия  
e-mail: osol@mail.ru

Однополые цветки двудомных, однодомных и полигамных видов, несмотря на огромное разнообразие, представлены двумя основными типами – цветками с редуцированными репродуктивными органами противоположного пола (тип I) и цветками, у которых они отсутствуют (тип II). Оба типа цветков имеют независимое происхождение от гермафродитных предков, что подтверждается консервативностью последовательностей и функций генов ABC классов. Развитие однополых цветков запускается фактором детерминации, имеющим генетическую или физиологическую природу. Этот фактор определяет путь дифференцировки от бипотенциальной флоральной меристемы к тычиночному или пестичному цветку. Генетические факторы детерминации двудомных и полигамных видов растений могут быть сцеплены с Y хромосомой (*S.latifolia*, *C.papaya*), с W хромосомой (*Populus*) или аутосомами, если пол определяется соотношением X/A, как у *R.acetosa*. В настоящее время у этих видов растений идентифицированы пол-специфические локусы с функцией супрессии развития плодоложков, а также выявлены молекулярные маркеры, которые позволяют установить гены-детерминанты

мужского пола. Двудомность коррелирует с наличием половых хромосом, которые считаются эволюционно молодыми (их возраст не превышает 10 млн. лет по сравнению с эволюционно древними хромосомами животных), и поэтому являются прекрасными моделями по изучению эволюции половых хромосом и механизмов детерминации пола. Сравнительный анализ механизмов детерминации пола у растений и животных показывает, что биологическая функция половых хромосом связана только с поддержанием полового диморфизма, но не детерминации пола. Факторы детерминации мало изучены, тем не менее, в последнее время показана роль генов микроРНК и метилирования ДНК в процессе регуляции развития однополых цветков у однодомных растений. Отличительной особенностью формирования цветков I типа является регуляция развития тычинок и плодоложков на постгермафродитной стадии. Это может быть пол-специфическая регуляция клеточных делений с участием генов циклинов *SlCycA1* и гистонов *SlH4*, как у *S.latifolia*; программируемая гибель клеток гинечия (*Z.mays*) или клеток нуцеллуса (*V.vinifera*). Формирование пестичных или тычиночных цветков II типа происходит не за счет гомеозисной трансформации, как можно было ожидать, а в результате ранней дифференциальной инициации и развития примордиев третьего и четвертого круга, как у *Spinacia oleracea* и *Thalictrum dioicum*. Изучение роли генов В и С классов у растений с однополыми цветками I и II типа дает возможность изучения их эволюции и диверсификации функций.

Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-00122.

#### С4-07. ВЛИЯНИЕ ТРАНЗИЕНТНОЙ ЭКСПРЕССИИ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ДНК-ПОЛИМЕРАЗЫ ЙОТА ЧЕЛОВЕКА НА РАЗВИТИЕ ЭМБРИОНОВ ВЬЮНА

**Андреева Л.Е.**<sup>2</sup>, **Козикова Л.В.**<sup>\*1</sup>, **Ненашева В.В.**<sup>2</sup>, **Макарова И.В.**<sup>2</sup>, **Ляхин А.В.**<sup>2</sup>, **Хайдарова Н.В.**<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский НИИ генетики и разведения сельскохозяйственных животных РАСХН (Санкт-Петербург-Пушкин), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН (Москва), Россия

\*e-mail: larkozik@list.ru

ДНК-полимераза йота (Pol ι) – наименее точная ДНК-полимераза высших эукариот. Ранее нами была показана высокая транзистентная активность Pol ι в тканях 3-5-суточных эмбрионов вьюна после введения плазмиды рPINC с геном ДНК-полимеразы йота человека (POLI) в оплодотворенные икринки. В базе данных также присутствует «удлиненная» последовательность мРНК POLI. В белке, кодируемом этой «удлиненной» мРНК, на N-конце находятся дополнительные 25 а.о. Роль этих остатков неясна, предполагается, что они удаляются во время процессинга белка. Для анализа свойств данной формы белка нами сконструирована плаزمида рNi, содержащая «удлиненную» кДНК гена POLI. Инъекция обоих вариантов плазмид - рPINC и рNi - показала снижение выживаемости зародышей к 4-м суткам развития по сравнению с контролем (интактные зародыши и икринки, инъецированные плазмидой рCIneo), при этом выживаемость зародышей с трансгеном рPINC была достоверно ниже, чем эмбрионов с рNi и контрольной плазмидой. Сравнение активности «укороченной» и «удлиненной» Pol ι, определяемой по методу «misGvA», в экстрактах эмбрионов вьюна показало достоверно более высокий уровень активности в эмбрионах с рPINC-трансгеном, причем у аномальных зародышей экспрессия Pol ι человека была выражена более интенсивно, чем у нормальных. Подсчет пикнотических ядер у 4-суточных эмбрионов с «укороченной» Pol ι показал достоверное увеличение их количества в отличие от зародышей с «удлиненной» Pol ι, где достоверной разницы между экспериментальными и



контрольными зародышами не наблюдалось. С помощью количественной ПЦР в реальном времени на кДНК, полученной с мРНК, выделенной из 4-суточных эмбрионов, инъекционных трансгенами рPINC и рNi, обнаружен достоверно высокий уровень экспрессии мРНК ДНК-полимеразы йота человека в зародышах вьюнов с обеими формами трансгена. Полученные данные соответствуют предположению, что «удлиненная» форма Pol I человека является пробелком и для проявления полноценной активности должна подвергаться процессингу. Возможно, в тканях эмбрионов вьюна не имеется в достаточном количестве соответствующих факторов для полноценного созревания гетерологического белка. Работа поддержана Программой фундаментальных исследований президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития».

#### \*С4-08. МЕРИСТЕМОПОДОБНАЯ ПРИРОДА ОПУХОЛЕЙ У РАСТЕНИЙ

*Осипова М.А.*\*, *Творогова В.Е.*, *Виноградова А.П.*, *Ганчева М.С.*, *Додуева И.Е.*, *Лутова Л.А.*

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

\*e-mail: mary\_osipova@mail.ru

У растений баланс пролиферации и дифференцировки клеток контролируется с участием ключевых гормонов, ауксина и цитокинина, а также транскрипционных факторов. Изменение баланса ауксина и цитокинина может приводить к аномалиям развития, в частности, к формированию опухолевых структур. Наиболее изученным примером опухолеобразования у растений являются индуцируемые агробактериями опухолевые структуры – корончатые галлы, которые развиваются в результате экспрессии генов биосинтеза гормонов, ауксина и цитокинина, переносимых бактериями в геном растений в составе Т-ДНК. Также известны примеры формирования опухолей у определенных генотипов растений в результате нарушения баланса эндогенных гормонов. Среди них – генетические опухоли, образующиеся на корнеплодах у инбредных линий редиса *Raphanus sativus* из Петергофской генетической коллекции кафедры генетики и биотехнологии СПбГУ. Было показано, что при опухолеобразовании изменяется соотношение гормонов ауксина и цитокинина. Каким образом меняется набор экспрессируемых транскрипционных факторов в опухолевых тканях, известно в меньшей степени. В настоящей работе мы провели детальное изучение гистологической структуры генетических опухолей и опухолей, индуцированных агробактериями. Анализ распределения пролиферирующих клеток с помощью меченого аналога тимидина, 5-этинил-2-дезоксидеоксиридина, позволил выявить в опухолях меристематические очаги. Было показано, что в этих участках наблюдается повышенная активность ауксин-регулируемой конструкции *DR5::GUS*. Кроме того, мы также изучили экспрессию основных меристем-специфических генов в опухолевых тканях, и показали, что в опухолевых тканях разной природы наблюдается активность гена *WOX5*, маркера покоящегося центра апикальной меристемы корня. Полученные результаты нашей работы позволяют высказать предположения о природе меристематических очагов, возникающих в областях с концентрационным максимумом гормона ауксина, ассоциированных с экспрессией меристематического гена *WOX5*.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ мол\_а 12-04-32021, 13-04-02140, НИР СПбГУ 1.38.67.2011, гранта Президента РФ по поддержке Ведущих научных школ НШ-5345.2012.4, ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013г (Соглашение №8045 от 20.07.2012 г).

#### M4-01. УЧАСТИЕ ГЕНОВ *WOX* В СОМАТИЧЕСКОМ ЭМБРИОГЕНЕЗЕ

*Творогова В.Е.*\*, *Осипова М.А.*, *Лутова Л.А.*

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

\*e-mail: krubaza@mail.ru

Соматический эмбриогенез – это процесс, при котором незиготические клетки формируют эмбрионы, которые проходят через характерные стадии эмбрионального развития, в конечном счете формируя новое растение. Существует множество протоколов получения соматических эмбрионов, разработанных для разных видов растений. В большинстве случаев эти протоколы включают в себя обработку эксплантов растений ауксином и получение каллусов, на которых впоследствии формируются соматические эмбрионы. Ранние этапы соматического эмбриогенеза с трудом можно визуализировать, однако многие более поздние стадии развития соматических и зиготических эмбрионов морфологически сходны. Можно предположить, что гены-участники зиготического эмбриогенеза вовлечены и в развитие соматических эмбрионов. Одними из основных регуляторов развития зиготических эмбрионов являются гены семейства *WOX* (*WUSCHEL-RELATED HOMEBOX*). Наиболее известными представителями этого семейства являются гены *WUSCHEL* и *WOX5* – основные регуляторы апикальных меристем побега и корня у взрослого растения. Известно, что эти гены вовлечены и в закладку апикальных меристем в ходе зиготического эмбриогенеза. Семейство *WOX* включает в себя также гены *WOX2*, 8 и 9, которые, как было показано на арабидопсисе, отвечают за формирование апикально-базальной оси эмбриона на самых ранних этапах его развития, начиная с одноклеточной стадии. Ряд исследований посвящен работе генов *WOX* в соматическом эмбриогенезе. В частности, было показано, что ген *WUSCHEL* является важным стимулятором соматического эмбриогенеза и отвечает за формирование побеговой апикальной меристемы у соматических эмбрионов. Участие же генов раннего эмбрионального развития – *WOX2*, 8 и 9 – в соматическом эмбриогенезе детально не изучалось. Одним из удобных объектов для изучения соматического эмбриогенеза является люцерна (*Medicago truncatula*). В 1990-х годах была выведена линия *M. truncatula*, характеризующаяся высокой эмбриогенной способностью. Мы решили использовать эту линию для исследования соматического эмбриогенеза. Таким образом, наша работа посвящена изучению динамики экспрессии генов *WOX*, отвечающих за ранний эмбриогенез, в ходе формирования соматических эмбрионов у *M. truncatula*. Полученные данные помогут выявить маркеры раннего соматического эмбриогенеза и узнать, каким образом в каллусе определяются отдельные клетки, которые впоследствии дадут начало соматическим эмбрионам.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ мол\_а 12-04-32021, 13-04-02140, НИР СПбГУ 1.38.67.2011, гранта Президента РФ по поддержке Ведущих научных школ НШ-5345.2012.4, ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013г (Соглашение №8045 от 20.07.2012 г).

#### M4-02. НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ПРОЯВЛЕНИЯ КАРЛИКОВОСТИ У *ARABIDOPSIS THALIANA* НА РАЗНОМ ГЕНЕТИЧЕСКОМ ФОНЕ – РЕЗУЛЬТАТ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АЛЛЕЛЕЙ

*Альберт Е.В.*, *Мамошина П.О.*, *Ежова Т.А.*\*

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (Москва), Россия

\*e-mail: ezhova2001@mail.ru

Карликовая полудоминантная мутация *nana-D* (*na-D*) получена с помощью индуцированного мутагенеза из расы Enk. При воз-

вратных скрещиваниях наблюдали моногенное наследование карликовости, причем у мутантных гомозигот апикальная меристема побега (AM) прекращала пролиферацию до выметывания цветоноса, либо давала главный цветонос с единичными цветками (1-3 цветка), а гетерозиготы образовывали цветонос с 5-15 цветками, после чего AM прекращала пролиферацию (высота главного цветоноса гетерозигот не превышала 2 см). Аналогичный уровень экспрессивности мутации *na-D* наблюдался на фоне расы Dj и линии Ler. В то же время, при скрещивании с растениями рас Col, Bla, Ws наблюдали существенное падение экспрессивности карликовости у гетерозигот. Высота главного цветоноса гибридов F<sub>1</sub> достигала таковой у дикого типа (до 27 см). В F<sub>2</sub> выщеплялись мутантные гомозиготы без цветоносов, растения дикого типа, а также гетерозиготы, имеющие разный рост (от неотличимых от дикого типа – до похожих на гетерозиготы на фоне расы Enk). Выявленная нестабильность проявления признака карликовости у гетерозигот может быть результатом «замолкания» полудоминантной аллели *na-D* под влиянием диких аллелей того же гена из рас Col, Bla, Ws. В пользу эпигенетического изменения мутантной аллели *na-D* под влиянием аллелей *NA* из некоторых диких рас (*NA-col*, *NA-bla*, *NA-ws*) свидетельствуют данные анализа поколений F<sub>3</sub> - F<sub>7</sub>, показавшие зависимость экспрессивности карликовости у растений от фенотипа материнского растения. Так, среди потомков F<sub>3</sub> от растений F<sub>2</sub> (*na-D/NA-col*), имеющих длину главного цветоноса 1,2-1,5 см, преобладали растения с длиной цветоноса ≤ 1 см (59%), а растения выше, чем 15 см составляли 29%. В то же время, в потомстве высоких (20-22 см) гетерозигот F<sub>2</sub> доля растений F<sub>3</sub> ≥ 15 см составляла уже 52%. Т.е. чем выше были гетерозиготы F<sub>2</sub>, тем больше высоких гетерозигот наблюдали в следующем поколении, и наоборот. Эти данные являются убедительным свидетельством возникновения наследуемых модификаций аллели *na-D* под влиянием аллелей *NA-col*, *NA-bla*, *NA-ws*, но не *NA-dj*, *NA-ler*. Таким образом, *na-D* проявляет свойства парамутабельных аллелей, обнаруженных у кукурузы. Тем не менее, причины неизменности фенотипа гомозигот *na-D* вне зависимости от генетического фона пока не ясны. Работа поддержана грантом РФФИ № 13-04-00122.

#### М4-03. АРГИНИН-Х ПРОЦЕССИНГ ПРОТЕОМА ХРОМАТИНА G1 и G1/S-ПЕРЕХОДНОЙ ФАЗЫ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА КАК СИГНАЛЬНАЯ СИСТЕМА ИНДУКЦИИ РОСТОВОГО МОРФОГЕНЕЗА ЗРЕЛЫХ ЗАРОДЫШЕЙ ЯРОВОЙ и ОЗИМОЙ ПШЕНИЦ

*Иванова Э.А.\*, Вафина Г.Х., Иванов Р.С.*

ФГБУН Институт биологии УНЦ РАН (Уфа), Россия  
\*e-mail: evilina@anrb.ru

Удивительная пластичность растений приспосабливаться к новому образу жизни, быть то в яровой, то в озимой форме и особенно молекулярно-генетические механизмы этого явления интересовали ученых давно. В процессе адаптации живых организмов к температурным условиям среды происходят изменения на всех уровнях организации – организменном, тканевом, клеточном и молекулярном. В настоящее время активно изучается пространственно-временная организация эукариотического генома в связи с работой эпигенетических механизмов. Удобной моделью для исследования некоторых особенностей биохимической адаптации на уровне молекулярно-генетических механизмов клеточного ядра, является триада сортов пшениц: яровая Артемовка, выведенная из нее озимая Мироновская 808 и выведенная из последней вновь Мироновская яровая. Из литературы известно, что адаптивная эволюция происходила у белков контролирующей фазу роста G1 и G1/S-переход – наиболее вариабельных периодов фаз клеточного цикла эукариот.

Эти вариабельные периоды клеточного цикла находятся под управлением внешних ростовых факторов. Продолжительность фазы роста G1 и G1/S-перехода значительно варьируют у эукариот, являясь основной чертой различия клеточных типов. Ранее было предположено, что в процессе перевода яровости в озимость сигналы как внешней, так и внутренней среды могут вызывать эпигенетические модификации в растении. Работы конца XX века показали, что в клеточных ядрах, а также и в нуклеосомах функционирует система протеиназ, специфический эффект которых связан с конформационными перестройками биополимерных структур. Наиболее ярким представителем ядерных протеиназ являются трипсиноподобные протеиназы, действие которых направлено на Арг-Х связи, которыми богаты негистоновые и гистоновые блоки белков, ассоциированные с нуклеиновыми кислотами. В представленной работе показано, что в процессе инициации ростового морфогенеза зрелых зародышей яровой Артемовки и выведенной из нее Мироновской 808 озимой и вновь выведенной из последней Мироновской яровой пшениц, функционируют механизмы пространственно-временной реорганизации хроматиновых структур при участии Арг-Х протеолиза. Также исследованы особенности протеомной динамики биогетерополимерных структур (нуклеоплазмы, хроматина, ядерного матрикса) интерфазных ядер периодов G1 и G1/S. Показано изменение локализации Арг-Х зон протеолитической активности в гистонах и негистонах, которое может быть связано с изменением плотности натяжения и изменения структуры хроматина в процессе реализации морфогенетической программы развития растений.

#### М4-04. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РОЛИ ГЛУТАТИОНА В РАЗВИТИИ СИМБИОТИЧЕСКИХ КЛУБЕНЬКОВ ГОРОХА

*Иванова К.А.\*, Цыганов В.Е.*

ГНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии (Санкт-Петербург), Россия  
\*kirakosmonavt\_24@mail.ru

Симбиотические взаимодействия между бобовыми растениями и клубеньковыми бактериями сопровождаются продукцией активных форм кислорода. Симбиотические партнеры оснащены большим количеством ферментных и неферментных антиоксидантных систем, которые могут как улавливать активные формы кислорода, способные спровоцировать окислительный стресс и повреждения клетки, так и регулировать стационарный уровень таких молекул, выступающих в качестве вторичных мессенджеров. Глутатион является наиболее распространенным низкомолекулярным тиолом в растениях, вовлеченным в различные аспекты защиты растений, действуя непосредственно как антиоксидант, а также как часть аскорбат-глутатионового цикла. Для выявления пространственной локализации глутатиона в тканях азотфиксирующего клубенька гороха и стадий развития клубенька, на которых наблюдается его синтез, использовали исходную линию гороха SGE и полученные на ее основе мутанты с аномалиями в развитии симбиотических клубеньков на различных стадиях. Мутант по гену *sym40* характеризуется формированием гипертрофированных инфекционных нитей и инфекционных капелек, по гену *sym33* – «запертыми» инфекционными нитями из которых не происходит эндоцитоза ризобий, двойной мутант *sym33*, *sym40* – сходным фенотипом с мутантом по гену *sym33* и мутант по гену *sym25* – преждевременной деградацией симбиотических структур (ранним старением). Была исследована экспрессия генов, кодирующих ферменты синтеза глутатиона и гомоглутатиона в симбиотических клубеньках гороха: *GSH1* (γ-глутамилцистеинсинтаза), *GSHS* (глутатионсинтаза) и *hGSHS* (гомоглута-

тионсинтаза). Было показано, что мутации по генам *sum33* и *sum40* приводят к значительному усилению экспрессии генов, кодирующих данные ферменты, по сравнению с исходной линией. При анализе уровня экспрессии гена *GSH1* наблюдалось его значительное увеличение по сравнению с исходной линией, как у одиночного, так и у двойного мутантов по гену *sum33*. При этом было показано, что наибольший уровень экспрессии гена *GSHS* характерен для мутанта по гену *sum40*, а гена *hGSHS* – для мутантов по гену *sum33*. Иммунолокализация глутатиона в тканях симбиотических клубеньков исходной линии гороха выявила его преимущественную локализацию в зонах инфекции и азотфиксации, тогда как у мутантных линий по генам *sum33* и *sum40* глутатион обнаруживался вокруг дефектных структур или клеток. Ранее было показано, что мутанты по генам *sum33* и *sum40* характеризуются увеличенной продукцией активных форм кислорода в клубеньках, что вероятно, вызывает повышенную активность ферментов синтеза глутатиона. Работа поддержана грантами Президента РФ (НШ-4603.2014.4) и РФФИ (14-04-00383).

#### М4-05. ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ГЕНОВ *KNOX* В РАЗВИТИИ СИМБИОТИЧЕСКИХ КЛУБЕНЬКОВ

Азарахи М.\*, Осипова М.А., Лутова Л.А.

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

\*e-mail: mahboobeazarakhsh@gmail.com

Гормон цитокинин играет важную роль в развитии симбиотических клубеньков, образующихся на корнях бобовых растений при взаимодействии с почвенными бактериями ризобиями. Известно, что цитокинин активирует кортикальные клеточные деления в ходе ранних этапов развития клубеньков и при этом компоненты сигнального ответа на цитокинин активируются в ответ на действие Nod-факторов, выделяемых ризобиями. Однако причина активации цитокининового отве-

та в ходе развития клубенька на настоящий момент остается не выясненной. Известно, что в апикальной меристеме побега транскрипционные факторы семейства *KNOX* (*KNOTTED-like homeobox*) активируют экспрессию генов биосинтеза цитокинина (*IPT*, *Isopentenyl transferase*). Роль транскрипционных факторов семейства *KNOX* в развитии клубенька не была ранее изучена. Мы предположили, что активация цитокининового ответа при развитии клубеньков может быть связана с индукцией экспрессии генов *IPT*, и что транскрипционные факторы семейства *KNOX* могут также быть вовлечены в развитие клубеньков. Мы проанализировали экспрессию различных представителей семейства *KNOX* у *Medicago truncatula* и выявили активацию экспрессии гена *KNOX3* в ответ на инокуляцию ризобиями. При этом экспрессия других проанализированных генов *KNOX* (*KNOX 1, 2, 4, 5, 6*) в ответ на инокуляцию значительно не изменялась. Для более детального исследования был проведен локальный анализ экспрессии гена *KNOX3* с помощью созданной нами конструкции *pKNOX3::GUS*. На ранних этапах развития клубенька активность *pKNOX3::GUS* наблюдается во всем примордии, тогда как на более поздних стадиях можно наблюдать экспрессию *pKNOX3::GUS* в апикальной части клубенька и в области закладки проводящих пучков. Кроме того, нами также изучена экспрессия генов *IPT* в ответ на инокуляцию ризобиями и выявлен ряд генов, экспрессия которых усиливается в ответ на инокуляцию. Для изучения связи между транскрипционным фактором *KNOX3* и генами *IPT*, а также для выявления функции гена *KNOX3* в развитии клубеньков создаются трансгенные растения со сверхэкспрессией *KNOX3*. Полученные результаты позволят лучше понять механизмы развития клубеньков и регуляции пролиферации клеток в различных типах меристем растений. Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ мол\_а 12-04-32021, 13-04-02140, гранта Президента РФ по поддержке Ведущих научных школ НШ-5345.2012.4, ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013г (Соглашение № 8045 от 20.07.2012 г).



# ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА, МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ ДЛЯ БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

## ИЗМЕНЧИВОСТЬ Y-ХРОМОСОМЫ И МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК В НАРОДОНАСЕЛЕНИИ МИРА И ПРОБЛЕМА СОПОСТАВИМОСТИ ГАПЛОИДНЫХ И ПОЛНОГЕНОМНЫХ ДАННЫХ

***Балановский О.П.*** <sup>\*1</sup>, ***Запорожченко В.В.*** <sup>2</sup>, ***Пиеничнов А.С.*** <sup>2</sup>,  
***Виллемс Р.*** <sup>3</sup>, ***Балановская Е.В.*** <sup>4</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ «МГНЦ» РАМН (Москва), Россия;

<sup>3</sup>Эстонский биоцентр (Тарту), Эстония;

<sup>4</sup>ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН (Москва), Россия

\*e-mail: balanovsky@inbox.ru

Анализ полиморфизма Y-хромосомы и митохондриальной ДНК (нерекombинирующих, гапloidных, однородительских систем маркеров) более десяти лет был магистральным направлением популяционной генетики человека, а в последние годы уступает место полногеномному анализу. В докладе будет представлен обобщающий анализ изменчивости гапloidных систем в масштабе всей ойкумены и рассмотрен вопрос их сопоставимости с полногеномными данными. Замах на анализ мирового генофонда оправдан тем, что авторами не только созданы крупнейшие в мире базы данных по разнообразию Y-хромосомы и мтДНК, но и разработан набор методов геногеографического анализа, реализованный в картографическом программном пакете GeneGeo. В результате созданы два картографических атласа генофонда народонаселения мира: по гаплогруппам Y-хромосомы и мтДНК. Каждый атлас включает как сотни карт распространения отдельных гаплогрупп, так и их обобщенные карты: объективно выделенных географических типов (континуумов) гаплогрупп, генетических границ, внутривидового разнообразия. Это позволило вычлени ряд паттернов в структуре мирового генофонда, имеющих параллели как в антропологической классификации, так и в особенностях неолитизации. Вопрос о сопоставимости этих данных по гапloidным системам с полногеномными данными (на данном этапе получаемым на основе чипов высокой плотности) рассматривается на двух уровнях: мирового генофонда и генофонда славян. Последний был весьма подробно, равномерно и сопоставимо изучен по всем трем системам маркеров, что позволяет основательно подойти к проблеме скоррелированности различных генетических систем друг с другом, а также с параметрами лингвистического родства и географического соседства. Ис-

следование поддержано грантами РФФИ 13-04-01711\_а, 13-06-006702\_а, 13-04-90420\_укр\_ф\_а и Программами Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология», «Фундаментальные науки – медицине», «Динамика генофондов».

## ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ НАСЕЛЕНИЯ СЕВЕРНОЙ ЕВРАЗИИ И ПРОБЛЕМЫ ЭВОЛЮЦИОННОЙ МЕДИЦИНЫ

***Степанов В.А.***

ФГБУ Научно-исследовательский институт медицинской генетики СО РАМН (Томск), Россия

\*e-mail: vadim.stepanov@medgenetics.ru

Эволюционно-генетический взгляд на проблему возникновения и распространения в современных популяциях человека заболеваний мультифакторной природы является одним из перспективных подходов к выявлению молекулярных механизмов заболеваний и поиску «упущенной наследуемости». Эволюционная медицина – один из концептуальных приемов для анализа и осмысления огромного количества данных, генерируемых современными «омными» технологиями – полногеномным секвенированием, транскриптомикой, эпигеномикой. В эволюционной медицине болезнь рассматривается как результат противоречия между сформированной факторами эволюции генетической структуры популяции и «требованиями сегодняшнего дня» (средой, образом жизни). Концепции эволюционной медицины активно обсуждаются в современной литературе. Предлагаются гипотезы, описывающие роль микроэволюционных факторов (прежде всего, естественного отбора) в формировании подверженности к распространенным болезням в современных популяциях, как в ходе глобальных изменений среды обитания при расселении современного человека из Африки, так и входе адаптации к локальным условиям. Активно изучается и роль изменений генома в ходе эволюции гоминид за последние 5-6 миллионов лет в формировании генетических основ некоторых распространенных болезней человека – например, репродуктивных нарушений и иммунного ответа на инфекционные агенты. Выявлено некоторое число орфанных генов человека (генов, отсутствующих у современных обезьян и возникших в эволюционной линии человека). Показано, что некоторые из них вовлечены в механизмы, определяющие подверженность к ряду частых хронических болезней. Таким образом, исследования особенностей генетического разнообра-

разия на межпопуляционном либо на межвидовом уровне в контексте поиска генетических маркеров заболеваний и их эволюционно-генетического происхождения формируют содержание современной эволюционной медицины. Предполагается, что эволюционные подходы к генетике болезней дадут новую информацию как о генетической компоненте (новые гены и генетические маркеры), так и о причинах и механизмах болезней человека. Население России и сопредельных регионов, характеризующееся значительным генетическим разнообразием, генетической и географической дифференциацией, представляет собой хорошую модель для выявления сигналов адаптивной эволюции генетического разнообразия, поиска маркеров естественного отбора и деканализации геном-феномных отношений в ходе расселения человека. В лекции будет представлен обзор некоторых современных концепций эволюционной медицины и приведены собственные данные о поиске генов и генетических маркеров распространенных болезней на основе эволюционно-генетических подходов к анализу данных, генерируемых геномными и постгеномными технологиями.

### ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА – МОСТ МЕЖДУ ЕСТЕСТВЕННЫМИ И ГУМАНИТАРНЫМИ НАУКАМИ

*Янковский Н.К.*<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова (Москва), Россия

\*e-mail: yankovsky@vigg.ru

Развитие генетических и геномных технологий в последние десятилетия привели к расширению сферы использования генетических данных и как в фундаментальных исследованиях, так и в появлении новых областей практических приложений. В докладе будет представлен обзор результатов междисциплинарных исследований, направленных на реконструкции истории человечества и включающих данные о генетическом, лингвистическом, хозяйственно-культурном разнообразии исторически сложившихся общностей людей. Особое внимание будет уделено таким практическим приложениям результатов фундаментальных исследований как определение этнотерриториального происхождения и идентификация индивида в криминалистике.

### СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ПАТОЛОГИЙ ЧЕЛОВЕКА В РОССИИ И ЗА РУБЕЖОМ

*Мошкин М.П.*

ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия

\*e-mail: mmp@bionet.nsc.ru

Для анализа причинно-следственных связей между генетическими особенностями человека и его и предрасположенностью к заболеваниям требуется все большее число экспериментальных животных, моделирующих различные формы патологий. Технологический прогресс геномной инженерии, достигнутый в этой области биологии, позволяет, в дополнение к традиционной селекции, получать, методами геномной инженерии: (1) экспериментальные организмы, имитирующие, с высокой степенью соответствия, генетические основы различных патологий человека; (2) создавать животных с управляемой экспрессией генов и с визуализацией молекулярно-генетических процессов; (3) наконец, внедряя гены человека в геномы лабораторных животных использовать их как при проверке эффективности ле-

карственных препаратов, так и в биотехнологических циклах, связанных с производством белков медицинского назначения. Для эффективного использования этого неуклонно растущего генетического разнообразия во всех развитых странах созданы центры генетических ресурсов лабораторных животных. Первый подобный инфраструктурный комплекс с полным набором технологических компетенций создается в ИЦиГ СО РАН. За короткий период своего существования Центр генетических ресурсов, созданный на базе «SPF-вивария», обеспечил получение ряда прорывных научных результатов в области репродуктивной биологии, взаимодействия микробиома и организма хозяина, нанобиологии и нанобиобезопасности.

### ЕВГЕНИКА – СОБЛАЗН ОСТАЕТСЯ

*Асланян М.М.*

ФГБОУ ВПО Московский государственный университет

им. М.В. Ломоносова (Москва), Россия

e-mail: marlen@mail.ru

Евгенику называют наукой об улучшении человеческого рода, основателем которой является английский ученый Френсис Гальтон (1822 – 1911). На наш взгляд, евгеника – социально-биологическое движение с разной политической окраской. В основе евгенических мероприятий лежат методы отбора, то есть селекция. По степени жесткости отбора евгенику подразделяют на позитивную и негативную. В разных странах евгеника развивалась с определенным специфическим акцентом, а в некоторых – приобрела реакционную сущность. Человечеконенавистническая сущность подобных мероприятий достигла своего апогея в нацистской Германии на основе идеи «расовой гигиены». В СССР евгеническое движение, в котором участвовали выдающиеся ученые-генетики (Н.И. Кольцов, А. С. Серебровский, Ю.А. Филипченко, Г. Меллер и др.), развивалось с 1920 по 1929 год. Они надеялись, что позитивная евгеника позволит снизить уровень «генетического груза» в человеческой популяции (летальные мутации, наследственные дефекты и др.). Общественное осуждение евгеники в нашей стране началось в 30-е годы прошлого века, а после 2-й мировой войны охватило практически все страны мира, но соблазны «евгенизма» живучи. В ближайшем будущем человечество ожидает обострение экологических, продовольственных, демографических и других проблем. Это позволяет предположить, что в будущем евгеническая доктрина совершит еще не один цикл развития, но уже при наличии «социального заказа». Очевидно, что практическое применение евгенических мер потребует радикальной реформы системы морали. Нужно ли относить демографические проблемы к евгенике или биополитике? Действительно ли, что проблемы предиктивной медицины, геномной терапии, клонирования, генетической паспортизации и другие следует относить к компетенции евгеники? Современная биология и медицина достигли высокого совершенства в области биотехнологии, молекулярной биологии, генетической и клеточной инженерии, расшифрован «геном человека», разработаны методы диагностики и генотерапии наследственных болезней. Широкое распространение получило не только искусственное осеменение женщин, но и искусственное оплодотворение в пробирке (ЭКО), трансплантация зигот. Но даже такие «гуманные» методы вмешательства в природу человека вызывают моральные, этические и юридические осложнения. Следует обратить внимание на то, что все совершенные технологии принципиально не могут быть отнесены к евгенике, потому что они не связаны с генеративными функциями, а корректируют телесные (фенотипические) дефекты. Лауреат нобелевской премии Д. Ледерберг выступал против евгеники, призывая сосредоточить усилия на «евфенике» - изменении фенотипа, а не генотипа, на констру-

ировании человеческого окружения. Обсуждаемая идея генетического клонирования людей воспринимается в обществе негативно. Научная общественность, все крупные религиозные конфессии мира осуждают подобное вмешательство в природу человека. В 2001 году на заседании комитета ЮНЕСКО министры по делам науки 101 страны подтвердили «Непреложность свободы исследований, которой должны располагать международное научное содружество и призвали научных работников «предвидеть проблемы и быть готовыми принять вызовы, возникающие в связи с развитием науки и техники, а не пытаться решать их, когда они уже возникли». Историческое значение евгеники заключается в том, что она побудила развитие генетики человека и медицинской генетики. Альтернативой евгенике могут служить медико-генетическое просвещение и, особенно, широкое развитие медико-генетических консультаций.

### ЭТИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ В РОССИИ

*Ижевская В.Л.*

*ФГБУ Медико-генетический научный центр РАМН (Москва), Россия*

e-mail: izhevskaya@med-gen.ru

Медицинская генетика – область медицины, которая лежит в фокусе этических дискуссий. Это во многом связано с тем, что медицина становится все более «геномной» и все больше людей сталкиваются в своей жизни с результатами генетического тестирования и генетическими проблемами. В настоящее время разработан широкий спектр генетических тестов, и возможность генетического тестирования внесла радикальные изменения в диагностику, профилактику и лечение многих заболеваний. Однако медицинское применение генетического тестирования поднимает ряд этических, правовых и социальных вопросов, которые требуют рассмотрения и выработки подходов к их решению, чтобы получить максимальную отдачу от применения новых методов в здравоохранении. Формирование новых правовых положений для медико-биологической науки и практической медицины на основе моральных принципов общества не может быть отделено от формирования правосознания в разных социальных группах. Принято считать, что обоснованное медицинскими показаниями генетическое тестирование должно быть неотъемлемой частью спектра медицинских услуг для населения. Оно не должно навязываться, но должно быть вопросом свободного личного выбора. В соответствии с современными регламентирующими документами, действующими в развитых странах, тесты, которые используются в практической медицине, должны иметь доказанную клиническую полезность (clinical utility), а пациентом должно гарантироваться качество тестирования. Вместе с тем следует отметить, что значительная коммерциализация работ в области геномики привела к тому, что большое число генетических тестов уже предлагается фирмами-изготовителями непосредственно потребителю. Это приводит к тому, что такое тестирование проводится чаще, чем это необходимо для индивида, общества и здравоохранения, причем потребителю предлагаются тесты с недоказанной клинической полезностью. Есть опасения, что результаты тестов без должного медико-генетического консультирования могут быть неполно или неправильно интерпретированы, что чревато серьезными проблемами у потребителей таких тестов вплоть до развития ятрогенных состояний. В настоящее время за рубежом предпринимаются усилия по регламентации использования генетических тестов, адресованных непосредственно потребителям как на национальном, так и на международном уровне. В нашей стране все больше тестов

предлагается коммерческими структурами через интернет, мнимую систему здравоохранения. Однако формирование законодательной базы в области генетического тестирования в России, адекватной современному уровню развития этой отрасли знания, еще только начинается.

### ЭТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ГЕНЕТИКИ ПСИХИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ

*Гуткевич Е.В.*

*ФГБУ НИИ психического здоровья СО РАМН (Томск), Россия*  
e-mail: gutkevich.elena@gambler.ru

Психиатрия как ни одна другая медицинская дисциплина стоит близко к философии, а этика – это ветвь философии. Упоминанием о существующих колебаниях настроений и общественных форм поведения (альтруистических и противоположных ему), приводящих к особенностям лечения психических расстройств. В реальном коммуникативном сообществе методология анализа взаимодействий позволяет включать этику в механизм не только диагностирования, но и коррекции искажений коммуникации, в том числе, аддикций. Актуальная биопсихосоциальная парадигма психического здоровья говорит о том, что психические расстройства являются многофакторными, когда базисная биологическая ошибка очень рано (возможно, пренатально) часто вовлекает генетический компонент и ведет к комбинации структурных, функциональных и/или биохимических аномалий в развивающемся мозге. Эти аномалии формируют восприимчивость к болезни, которая может усиливаться под влиянием внешних, в том числе, семейных, стрессоров. Рассмотрение психических расстройств возможно как с генетической точки зрения, так и с позиции семейных отношений. Этические проблемы касаются вопросов использования информации, полученной в результате обследования и имеющей большое психологическое и социальное значение. При общении с пациентами и их семьями следует пояснять, что нынешние генетические знания являются неполными и могут быть скорректированы последующими открытиями. Генетическое консультирование относительно планирования семьи или прерывания беременности должно проводиться с учетом системы ценностей пациента, необходимо помогать пациентам самостоятельно принимать оптимальные для каждого из них решения, предоставив им достаточную медицинскую и психиатрическую информацию. В последние годы стало возможным использование ДНК-диагностики X-сцепленной умственной отсталости и других болезней у детей, хореи Гентингтона, болезни Альцгеймера, шизофренических расстройств, биполярного аффективного расстройства, алкогольной и наркотической зависимости у взрослых лиц. Однако результаты генетического анализа психических расстройств не означают, что заболевание обязательно проявится в определенном возрасте, а указывают лишь на изменение степени риска для носителя выявленных мутаций, для родственников больных. Специализированная медицинская помощь семье в вопросах генетики психических расстройств основана на авторской многоуровневой модели функционирования семьи психически больного и оказывается в Центре семейно-генетической профилактики психических расстройств ФГБУ «НИИПЗ» СО РАМН при совместном участии врача-генетика, врача-психиатра, психолога и психотерапевта, врачей-консультантов, специалиста по этике, социального работника, юриста. Этическое регулирование устанавливает соответствие между целями и результатами клинических, психологических, генетических, и других исследований психических расстройств, интересами и правами пациента и членов его семьи, интересами и правами общества в целом.



## ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СЕКВЕНИРОВАНИЯ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

**Стрельников В.В.**

ФГБУ Медико-генетический научный центр РАМН (Москва), Россия

\*e-mail: vstrel@list.ru

Развитие технологий гибридационных микрочипов и высокопроизводительного параллельного секвенирования обеспечивает принципиальную возможность исследования геномных профилей метилирования (метиломов) в представительных выборках биологического материала. На сегодняшний день исследование метиломов единичны и выполнены преимущественно с использованием гибридационных микрочипов. В то же время, отмечаются недостатки такого технологического подхода: невозможность результатов, связанная с различиями платформ и характерным для микрочипового гибридационного анализа групповым эффектом, приводит к значительному снижению информативности получаемых массивов данных. Геномное секвенирование бисульфит-модифицированной ДНК может повысить информативность анализа метиломов, однако в полногеномном варианте оно неприменимо к скринингу больших выборок по целому ряду причин. В качестве альтернативы рассматривается метод бисульфитного секвенирования ограниченных выборок геномных локусов с использованием геномных секвенаторов – RRBS (Reduced Representation Bisulfite Sequencing), который может успешно применяться в скрининговых исследованиях метиломов уже сегодня. Отличительной особенностью RRBS в сравнении с полногеномным бисульфитным секвенированием является возможность регулировать состав анализируемых библиотек, ограничивая представленность низкоинформативных нуклеотидных последовательностей и повышая относительную долю CpG-островков. В Медико-генетическом научном центре РАМН разработаны способы обоснованного сокращения библиотек секвенируемых геномных локусов RRBS, обеспечивающие максимальную селективность (долю последовательностей CpG-островков в общем массиве данных) при анализе метиломов. Для анализа оптимизированных выборок локусов разработан способ скрининга метиломов на основе высокопроизводительного параллельного секвенирования, в том числе с использованием настольных геномных анализаторов, что позволяет внедрить геномный анализ метилирования в широкую практику биологических и медико-биологических исследований. Разработанная технология используется нами для анализа метиломов рака молочной железы. Достоверность получаемых данных подтверждена сравнением наших результатов анализа метиломов клеточной линии рака молочной железы и образцов нормальной молочной железы с результатами, полученными для аналогичных материалов в рамках международного проекта ENCODE. В докладе будут представлены данные анализа метиломов иммуногистохимически различных типов рака молочной железы.

## НА ПУТИ К СИСТЕМНОЙ ГЕНЕТИКЕ ЭНДОМЕТРИОЗА

**Баранов В.С.**

НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: baranov@VB2475.spb.edu

На примере эндометриоза (Э), частого инвалидизирующего заболевания у женщин репродуктивного возраста, обсуждаются новые возможности предиктивной, превентивной и персонализированной медицины, основанные на принципах системной генетики. Рассмотрены патологические процессы,

ведущие к Э, а также гипотезы и теории его возникновения. Представлена геномная сеть Э с указанием основных групп генов-кандидатов: система детоксикации, половые гормоны, их рецепторы, цитокины, супрессоры опухолевого роста, гены эмбрионального развития женских репродуктивных органов, клеточной пролиферации, ангиогенеза и др. В настоящее время Э рассматривается как эпигенетическое заболевание, связанное с прогрессивной дисрегуляцией работы генома эндометрия в результате неблагоприятного сочетания аллелей генов-кандидатов, ошибок их экспрессии вследствие нарушения процессов метилирования ДНК, модификаций гистонов и дисбаланса регуляторных микро-РНК. С позиции системной генетики рассмотрена канализированность патогенеза Э. Толчком к началу патологического процесса могут быть разные причины: гормональный дисбаланс, экзогенные токсины, неблагоприятные сочетания аллелей генов-кандидатов или стабильные нарушения их регуляции. Начиная с определенной стадии метаболические нарушения становятся необратимыми и ведут к однотипным патофизиологическим и патоморфологическим нарушениям и соответствующим клиническим проявлениям. На основе принципов системной генетики обсуждаются два наиболее вероятных механизма патогенеза Э: инфекционный и метапластический. Решающим фактором метаплазии клеток эндометрия является активация ранних генов *WNT4*, *HOXA*, *HOXB*, *GALT*, ассоциация которых с Э доказана методом полногеномного скрининга.

## ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ НОВЫХ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИАГНОСТИКИ НА ОСНОВЕ ЧИПОВ ВЫСОКОЙ ПЛОТНОСТИ И ПАРАЛЛЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ В СОВРЕМЕННОЙ РЕПРОДУКТОЛОГИИ

**Скрябин К.Г.<sup>3</sup>, Прохорчук Е.Б.<sup>3,4</sup>, Мазур А.М.<sup>4</sup>, Шахтарин В.В.<sup>5</sup>, Курцер М.А.<sup>2</sup>, Гнетецкая В.А.<sup>1,2</sup>, Иванов М.А.<sup>2</sup>, Кутакова Ю.Ю.<sup>2</sup>, Сонгорова Е.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ГБУЗ ЦПСИР ДЗ (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ЗАО «МД Проект2000» (Москва), Россия;

<sup>3</sup>Центр «Биоинженерия» РАН (Москва), Россия;

<sup>4</sup>ЗАО «Геноаналитика» (Москва), Россия;

<sup>5</sup>ООО «Мой ген» (Москва), Россия

\*e-mail: shahtarin@i-gene.ru

В настоящем сообщении представлены результаты исследования носительства мутаций рецессивных моногенных заболеваний (PM3) методом SNP диагностики с использованием чипа Custom Genotyping Assays, диагностики основных (13, 18, 21, X и Y хромосомы) анеуплоидий плода (ДОТ-тест) с 10 неделями беременности по крови матери на основе полногеномного параллельного секвенирования, диагностики преимплантационной анеуплоидий blastomera на этапе ЭКО методом сравнительной геномной гибридации с использованием чипа высокой плотности 24 sure PGS. В работе использовались: сканер микроматриц Bead Array Reader и Gene Pix 6000 B, секвенаторы для массового параллельного секвенирования IonTorrent, SOLID 5500 xl и HiSeq 1500. Носительство PM3 изучено у 594 человек. При исследовании было диагностировано носительство 1021 мутаций 22 рецессивных заболеваний. Только 148 обследованных не имели мутаций, носителями одного, двух, трех, четырех и более исследуемых заболеваний были 197, 153, 70 и 26, в том числе, муковисцедоза 25, Тай-Сакса 5, Гоше 5 человек, соответственно. Полученные результаты свидетельствуют о высокой встречаемости носительства мутаций PM3, что необходимо учитывать при планировании беременности. Представлены результаты ДОТ-теста 426 женщин, у которых беременность завершилась родами. Медиана возраста женщин

на момент беременности 35,1 лет, мода 37,5 лет. В результате проведения ДОТ-теста не была диагностирована патология у 416 женщин. Все рожденные дети этих женщин фенотипически без патологии. Хромосомная патология диагностирована у 10 женщин, в том числе трисомии по 21 хромосоме 8, по 18 хромосоме 1, XO 1 случаев соответственно. Во всех случаях выявления анеуплоидий проводилась цитогенетическая или QF-ПЦР верификация. Диагностированные ДОТ-тестом трисомии подтверждены во все случаях, патология XO методом QF-ПЦР не подтверждена. Таким образом, чувствительность метода 100 %, специфичность – 99,7%. В последнее время отработана методика оценки анеуплоидий всех хромосом по ДНК, выделенной из одной клетки (бластомера). Первый опыт свидетельствует о высокой информативности метода и его потенциальной востребованности при проведении ЭКО. Только в 25% из всех обследованных бластомеров не были обнаружены анеуплоидии. В остальных случаях диагностировались в равной степени моно- и трисомии от 1 до 8 хромосом на бластомер.

### ПРЕИМПЛАНТАЦИОННЫЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ ЭМБРИОНОВ 5-ГО ДНЯ РАЗВИТИЯ МЕТОДОМ СРАВНИТЕЛЬНОЙ ГЕНОМНОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ НА МИКРОЧИПАХ

*Вяткина С.В.*\*, *Зубова Ю.Г.*, *Каменеца Ю.К.*, *Шлыкова С.А.*, *Зайцева О.Г.*, *Корнилов Н.В.*, *Каменецкий Б.А.*, *Калугина А.С.*

*Клиника «АВА-ПЕТЕР»*, Санкт-Петербург  
\*e-mail: viatkina-sv@avaclinic.ru

Значительная доля неудачных исходов программ ВРТ объясняется наличием хромосомных аномалий у эмбрионов. Это определяет актуальность проведения предимплантационного генетического скрининга (ПГС) в группах пациенток с повышенным риском хромосомной патологии. Сравнительная геномная гибридизация на микрочипах (aCGH) – это метод, позволяющий диагностировать численные и структурные нарушения одновременно во всех 23 парах хромосом. Важным прогностическим моментом является биопсия клеток трофобласта (5-6 день развития), которая не оказывает неблагоприятного воздействия на репродуктивный потенциал эмбриона, в отличие от биопсии бластомеров эмбриона 3-го дня развития. С ноября 2012 по декабрь 2013 года в клинике «АВА-Петер» ПГС методом aCGH (BlueGnome, UK) проведен на 281 бластоцисте 62 пациенток в возрасте от 24 до 43 лет. Показаниями для проведения ПГС были старший репродуктивный возраст, неудачные попытки ЭКО, привычное невынашивание беременности в анамнезе. На время исследования эмбрионы были заморожены методом витрификации, перенос осуществлен в последующих криоциклах. Результат получен для 275 бластоцист (97.9%). Только 118/275 (42.9%) эмбрионов были эуплоидными, тогда как 157/275 (57.1%) – с хромосомной патологией. У 90/157 (57.3%) эмбрионов выявили анеуплоидию по одной хромосоме (моносомия или трисомия), 49/157 (31.2%) эмбрионов имели множественные анеуплоидии. Только у 6/157 (3.8%) эмбрионов выявлены аномалии XY-хромосом. Структурные aberrации обнаружены у 12/157 (7.6%) эмбрионов. Следует отметить, что 29/157 (18.5%) всех хромосомных аномалий выявлены в мозаичном варианте. У 118/275 (42.9%) эмбрионов выявлены аномалии по хромосомам, не входящим в «стандартный» набор ПГС методом FISH (анализ 9 хромосом 13,14,15,16,18,21,22,XY). Данные эмбрионы при использовании метода FISH могли быть рекомендованы для переноса, что снизило бы результативность программ ВРТ. У 16/62 (25.8%) пациенток все исследованные эмбрионы несли хромосомные аномалии. Следует отметить, что в 12/16 случаях число диагностированных эмбрионов не

превышало 2-х. К декабрю 2013 года перенос размороженных эмбрионов без хромосомной патологии осуществлен 32 пациенткам, при этом в 28 случаях – селективный перенос одного эмбриона, в 4 – перенос двух эмбрионов. Биохимическая беременность зарегистрирована у 19/32 (59.4%), клиническая беременность – у 16/32 (50%) пациенток. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности ПГС методом aCGH для отбора эмбрионов со сбалансированным хромосомным аппаратом.

### СОМАТИЧЕСКАЯ ВАРИАбельНОСТЬ ГЕНОМА В ОНТОГЕНЕЗЕ

*Лебедев И.Н.*

*ФГБУ НИИ медицинской генетики СО РАМН (Томск), Россия*  
\*e-mail: igor.lebedev@medgenetics.ru

Одним из интригующих феноменов, меняющим представление об идентичности генома клеток организма, является соматический мозаицизм. В течение долгих лет соматический мутационный процесс, неизбежно протекающий в ходе онтогенеза, рассматривался исключительно как фактор риска онкологических заболеваний. Однако к настоящему времени накоплен ряд данных, свидетельствующих о патогенетической значимости мозаицизма в формировании некоторых репродуктивных проблем и невынашивания беременности, неврологических и когнитивных нарушений, сердечно-сосудистых заболеваний, старения организма. Предложен ряд гипотез и механизмов, объясняющих генетические эффекты мозаицизма, среди которых можно отметить потерю гетерозиготности и копий-нейтральную потерю гетерозиготности, ведущую к формированию однородительской дисомии хромосом, а также парадоминантное наследование. Возникновение мозаицизма является результатом соматических мутаций, происходящих на постзиготических этапах развития. Тем не менее, частота таких мутаций и их спектр на разных этапах онтогенеза остаются недостаточно исследованными, главным образом, вследствие недостаточности большинства тканей и органов для проведения генетического анализа. Одной из удобных модельных систем для изучения закономерностей формирования мозаицизма на ранних стадиях эмбрионального развития являются внутриутробно погибшие зародыши человека. Высокий уровень хромосомных мутаций в клетках спонтанных абортусов – одна из ведущих причин ранних репродуктивных потерь. Применение высокоразрешающих молекулярно-цитогенетических технологий и смещение фокуса исследования к анализу различных типов тканей и клеток позволило установить, что более чем у половины эмбрионов с хромосомными нарушениями аномалии кариотипа присутствуют в мозаичном состоянии с нормальной клеточной линией. При этом в 88% случаев наиболее распространенной мутации – трисомии аутосом, возникновение хромосомного мозаицизма является результатом коррекции анеуплоидии мейотического происхождения, тогда как в 12% случаев трисомия возникает в части соматических клеток зародыша *de novo*. Заслуживающим внимания результатом молекулярно-цитогенетических исследований является также обнаружение у спонтанных абортусов высокой частоты аутосомных моносомий, двойных и тройных анеуплоидий, ранее считавшихся редкими хромосомными аномалиями, приводящими к остановке развития еще на преимплантационных стадиях онтогенеза. Присутствуя в мозаичном состоянии с нормальной клеточной линией, они демонстрируют одну из важнейших биологических функций мозаицизма – увеличение генетического разнообразия через выживание организмов, несущих летальные или сублетальные мутации. Следует отметить, что явление мозаицизма не ограничивается исключительно геномными мутациями. Свидетельства в поль-

зу высокого уровня соматического мутационного процесса получены нами также при анализе мутаций микросателлитных повторов ДНК, вариаций числа копий крупных блоков повторов (CNV), эпимутаций, затрагивающих функциональную активность генов.

### ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ ПРИЦЕНТРОМЕРНОГО ГЕТЕРОХРОМАТИНА В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ ЧЕЛОВЕКА

*Кузнецова Т.В.*<sup>\*1</sup>, *Трофимова И.Л.*<sup>1</sup>, *Енукашвили Н.И.*<sup>2</sup>, *Баранов В.С.*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт цитологии РАН (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: tkuznetzova@mail.ru

В докладе суммированы данные литературы и результаты собственных исследований структурно-функциональных особенностей гетерохроматиновых сегментов хромосом человека, выявляемых с помощью C- и Q-методов дифференциальной окраски. Обсуждается природа обнаруженного нами феномена метахроматичной хромосом-специфичной (аналогичной DA/DAP1) окраски акридиновым оранжевым, позволяющей без предварительных обработок выявлять полиморфные C-блоки хромосом на препаратах, приготовленных прямым методом из образцов тканей, обладающих спонтанной митотической активностью (хорион, плацента эмбриональные органы, костный мозг, семенники). Традиционными цитогенетическими, а также молекулярно-цитогенетическими и иммуноцитохимическими методами ранее было показано, что в цитотрофобласте хориона в сравнении с клетками эмбрионального происхождения наиболее переменные гетерохроматиновые районы хромосом (1qh, 9qh, 15cenh, 16qh, 22cenh и Yqh) деконденсированы, обладают повышенной чувствительностью к ДНКазе I и РНКазам А и Н, гипометилированы, реплицируются одновременно со многими G-сегментами. Степень выраженности этих особенностей носит хромосом-специфичный и стадио-специфичный характер. При анализе пространственной организации ядра отмечено, что район 1q12 в составе хромоцентров преимущественно локализован в непосредственной близости к ядерной оболочке в интерфазных ядрах клеток хориона, плаценты и эмбриональных органов 8-11 недели развития, тогда как в хорионе на ранних сроках развития (4-5 недель) район 1q12 занимает пограничное с хромоцентрами расположение ближе к центру ядра. До 10-й недели развития в эмбриональных органах и хорионе обнаружены и охарактеризованы транскрипты сателлитной ДНК 3 хромосомы 1. Обсуждается роль транскрипции ДНК прицентромержного гетерохроматина в реализации программы индивидуального развития человека, в частности, в инициации начальных стадий эмбриогенеза, первичной дифференцировке, обеспечении процессов имплантации, плацентации и органогенеза в норме и патологии.

Поддержано грантом РФФИ 11-04-01639-а.

### ПОЛНОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ СЦЕПЛЕНИЯ СИМПТОМОВ ДЕПРЕССИИ

*Зорькольцева И.В.*<sup>\*1</sup>, *Демirkan А.*<sup>2</sup>, *Аксенович Т.И.*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>Медицинский центр (Роттердам), Голландия

\*e-mail: zor@bionet.nsc.ru

Депрессия – распространенное психическое расстройство, занимающее одно из первых мест среди причин нетрудоспо-

собности. Это мультифакториальное заболевание, которое является результатом сложного взаимодействия генетических и средовых факторов. Несмотря на интенсивные исследования, о генетическом контроле депрессии все еще мало известно. Нами проведен полногеномный анализ сцепления симптомов депрессии. Работа выполнена на материале большой родословной, 2203 члена которой были генотипированы по панели 6К Illumina Linkage и протестированы по шкале Center Epidemiological Studies of USA (CES-D) и шкале Hospital anxiety and depression (HADS-D). Значимое сцепление ( $LOD > 3.3$ ) продемонстрировали три локуса: 9q21 ( $LOD = 3.68$  для HADS-D), 13q33 ( $LOD = 3.8$  для CES-D) и 16q21 ( $LOD = 3.36$  для HADS-D). Пять локусов для HADS-D (1p36, 3p14, 9q32, 10q22 и 22q11) и один для CES-D (5q34) обнаружили сцепление с предположительным уровнем значимости ( $LOD > 1.9$ ). Региональный анализ ассоциаций, проведенный в этих локусах с использованием более плотной генетической панели, выявил пять однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs): rs311452 на хромосоме 1p36 ( $P$ -value =  $2.09 \times 10^{-3}$ ), rs2272600 на 5q34 ( $P$ -value = 0.02), rs7034735 на 9q21 ( $P$ -value =  $7.76 \times 10^{-3}$ ), rs1989775 ( $P$ -value = 0.02) на 9q32 и rs9937047 на 16q21 ( $P$ -value =  $5.93 \times 10^{-4}$ ). Анализ сцепления был повторен после введения генотипов этих SNPs в качестве ковариат. Для двух из них (rs7034735 и rs9937047) наблюдалось значительное снижение оценки LOD, что говорит о вкладе этих или других, находящихся с ними в неравновесии по сцеплению, SNPs в формирование сигналов сцепления. Rs7034735 находится в интроне гена PRUNE2 (9q21), а rs9937047, как показал eQTLs анализ, причастен к регуляции близлежащего гена, NDRG4 (16q21), экспрессирующегося в мозжечке. Таким образом, в данном исследовании впервые обнаружены сигналы на хромосомах 9q21 и 16q21, обусловленные полиморфизмами в районе генов PRUNE2 и NDRG4, что расширило список генов-кандидатов, роль которых в развитии депрессии должна быть детально изучена.

### АНАЛИЗ МУТАЦИЙ У БОЛЬНЫХ МУКОВИСЦИДОЗОМ МЕТОДОМ ПОЛНОЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ГЕНА CFTR

*Иващенко Т.Э.*<sup>\*1</sup>, *Насыхова Ю.А.*<sup>1</sup>, *Гембицкая Т.*<sup>2</sup>, *Орлов А.*<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ИАГ им. Отта (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>НИИ пульмонологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. академика И.П. Павлова (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: Tivashchenko2011@mail.ru

Муковисцидоз (МВ) (кистозный фиброз поджелудочной железы) - наиболее распространенное, тяжелое моногенное заболевание, наследуемое по аутосомно-рецессивному типу. Частоты и спектр мутаций гена CFTR в России, отличаются от таковых в Западной Европе и Северной Америке; диагностически значимыми мутациями (частота  $>2\%$ ) для пациентов с МВ России являются delF508, 394delTT, G542X, 2143delT, 2184insA, W1282X, N1303K, 3732delA, CFTRdel21kb. Учитывая сравнительно низкую (по сравнению с Западной Европой) частоту выявляемости мутаций при МВ в России (около 70-75 %) остается достаточно большое количество больных с неидентифицированными мутациями или с одной известной мутацией. Так, например, среди пациентов в Санкт-Петербурге одна мутация не идентифицирована у 38% больных, 2 – у 14% пациентов. Таким образом, полный генотип неизвестен у 52% пациентов. В настоящее время для идентификации неизвестных мутаций, приводящих к различным формам МВ, широко используют метод полноэкзомного секвенирования гена CFTR, позволяющий выявить мутации в кодирующей части гена и во фланкирующих экзонах интронных областях. С использованием разработанно-



го алгоритма по секвенированию экзона гена CFTR определена нуклеотидная последовательность кодирующей части гена у 40 пациентов с МВ, имеющих одну или две не идентифицированные мутации. В двух случаях выявлена сплайсинговая мутация 489+1G>T (621+1G>T) в экзоне 4, в двух случаях мутация L1335P в экзоне 25, не входящие в стандартные тест-системы, используемые на территории России. Выявлено три ранее не описанных мутаций в гене CFTR - c3816\_3817 delTG (экзон23), E92 A(экзон 4), K1468R(экзон27). Таким образом, дальнейший поиск мутаций в гене CFTR является приоритетной задачей, поскольку в ряде случаев позволяет уточнить диагноз, выявить спектр мутаций в СПб, усовершенствовать подходы к пренатальной диагностике, способствовать повышению качества медико-генетического консультирования и разработке методов лечения пациентов.

Исследование проведено при финансовой поддержке Благотворительного фонда "Острова"

#### МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ: АНАЛИЗ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ И ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ЦИТОКИНОВОЙ СЕТИ

*Тимашева Я.Р.<sup>1</sup>, Матвеева В.А.<sup>1</sup>, Николаева И.Е.<sup>2</sup>, Мустафина О.Е.<sup>\*1</sup>*

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН (Уфа), Россия;

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет (Уфа), Россия

\*e-mail: anmareg@mail.ru

Эссенциальная гипертензия (ЭГ) – многофакторное заболевание, многие вопросы этиологии и патогенеза которого остаются до сих пор неясными. Транскриптом клеток крови у больных ЭГ практически не исследован. Нами проведен анализ транскрипционной активности (ТА) генов в лейкоцитах крови больных ЭГ и здоровых лиц методом кДНК-микрочиповой технологии (RT2Profiler™ PCR Array, SuperArray Bioscience Corporation, США). Выявлена группа генов, чья ТА изменяется у больных по сравнению со здоровыми индивидами: *CCL16*, *CCL17*, *CCL18*, *CCL19*, *CCL23*, *CCL8*, *CCR6*, *CCR8*, *CX3CR1*, *CXCL13*, *ICEBERG*, *IL17C*, *IL1F10*, *IL1F6*, *IL1F9*, *SPPI*, *CD40LG*, *XCRI*, *CCL2*. Проведен функциональный анализ дифференциально экспрессирующихся генов с помощью сведений баз данных «Gene Ontology Biological Process» и «Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes» и обозначены функциональные категории генов, биологические процессы и сигнальные пути, в которых они задействованы. В наибольшей мере у больных ЭГ повышена ТА гена *CD40LG* (в 13.4 раза по сравнению с контрольной группой). Известно, что сигнальная система CD40-CD40L имеет центральное значение в развитии иммунных реакций и воспаления, в том числе и в формировании иммуновоспалительных реакций в сердечно-сосудистой системе. Среди генов с измененным уровнем ТА у больных ЭГ нами выявлены гены, кодирующие цитокины и рецепторы цитокинов, эффекты которых вносят вклад в регуляцию внутриклеточного гомеостаза ионов кальция; это – гены *CCL23*, *CXCL13*, *CXXR1*, *CCR6*, *CCR8*, *XCRI*. В целом полученные данные свидетельствуют в пользу участия транскриптома клеток крови в патогенезе ЭГ. Проведен анализ ассоциаций полиморфных локусов генов цитокиновой сети с ЭГ. Показано, что аллельные варианты генов *IL1B* (rs16944), *IL10* (rs1800872), *CCL2* (rs1860190, rs1024611, rs991804, rs3917887), *TNFRSF1A* (rs767455) вносят вклад в структуру наследственной предрасположенности к ЭГ. Полиморфный локус 704(14)I/D (rs3917887) гена *CCL2* ассоциирован с ТА этого гена у больных ЭГ; ТА гена выше у гомозигот по делеции, чем у гомо- и гетерозигот по инсерции.

Исследование поддержано грантом РФФИ (№12-04-97068).

#### АРХИТЕКТУРА ГЕНОМА: ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ХРОМОСОМНЫЕ БОЛЕЗНИ

*Кашеварова А.А.<sup>\*</sup>, Скрябин Н.А., Толмачева Е.Н., Саженова Е.А., Салюкова О.А., Четчикова Н.Н., Назаренко Л.П., Лебедев И.Н.*

ФГБУ НИИ медицинской генетики СО РАМН (Томск), Россия

\*e-mail: anna.kashevarova@medgenetics.ru

При секвенировании генома был выявлен новый класс повторяющихся последовательностей - сегментные дупликации (СД), которые, предрасполагая к неаллельной гомологичной рекомбинации (НАГР), обуславливают возникновение вариаций числа копий ДНК (CNV). Активное использование молекулярно-цитогенетических технологий установило весомый вклад CNV в появление патологий. Кроме того, значительная часть вариаций является полиморфными и обеспечивает формирование генетического разнообразия между индивидами. С помощью биоинформационного анализа в геноме человека было предсказано существование 130 «горячих» областей, фланкированных СД и предрасположенных к хромосомным мутациям. Опираясь на литературные данные и с использованием матричной сравнительной геномной гибридизации (aCGH) на микрочипах Agilent 44K и 60K, нами была достигнута цель охарактеризовать структурную вариабельность генома у пациентов с умственной отсталостью (УО) неясной этиологии в сочетании с дисморфиями. Были исследованы 84 ребенка. У 36 пациентов с УО кариотип оказался нормальным. У 24 детей были выявлены полиморфные CNV. Молекулярный диагноз в виде микроделеционного синдрома (МС) был поставлен 6 пробандам: 15q24 (2 человека), 16p11 (2 человека), 16p12 и 22q11 МС. Еще у одного ребенка была идентифицирована крупная делеция в области синдрома кошачьего крика. В геномах остальных 17 пациентов была обнаружена 21 потенциально патогенная хромосомная мутация. При сопоставлении наших данных с «горячими» областями CNV оказалось, что все выявленные МС и синдром кошачьего крика были предсказаны на молекулярном уровне. Кроме них, с литературными данными пересекались обнаруженные нами впервые области потенциально патогенных del2q12.3 и dup10q11.21q11.22. Однако, возможно также, что не все области были предсказаны. Так, у двух пробандов нами были обнаружены реципрокные перестройки del3p26.3 и dup3p26.3, не затрагивающие «горячие» участки. Они содержат единственный ген, кодирующий белок контактин, участвующих в межнейрональных взаимодействиях. И, наконец, 7 предсказанных областей пересекались с регионами полиморфных вариаций. Полиморфизмы del8q11.22 и del/dup15q11.1q11.2 чаще других встречались в нашей выборке и, очевидно, являются популяционно-специфичными. Важно, что в случае НАГР возникают как делеции, так и реципрокные дупликации одного и того же участка, что имеет особое значение при поиске клинически значимых CNV. Работа выполнена при поддержке гранта CHERISH № 223692 и гранта ФЦП „Научные и научно-педагогические кадры инновационной России“ на 2009-2013 гг., № 8727.

#### ПАЛЕОГЕНОМИКА ЧЕЛОВЕКА

*Пилипенко А.С.*

ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН

(Новосибирск), Россия

e-mail: alexpil@bionet.nsc.ru

Методы анализа древней ДНК в настоящее время получают распространение в широком спектре биологических дисциплин

лин и междисциплинарных исследованиях. Одним из ведущих направлений палеогенетики с самого начала становления этой области науки является исследование ДНК из останков человека различного возраста. Быстрое развитие технических возможностей анализа последовательности ДНК, включая появление ряда высокопроизводительных методов секвенирования, привело к значительному росту информативности образцов древней ДНК для решения широкого круга задач молекулярной генетики. Возможность получения данных о структуре отдельных генетических маркеров для большого числа образцов, большого числа маркеров для конкретных индивидов и даже полных последовательностей генома древнего человека позволяет говорить о полноценном становлении палеогенетики человека. В рамках палеогеномики человека можно выделить несколько основных направлений, в каждом из которых уже сейчас получены принципиально новые результаты. Исследование геномов поздних гоминид (неандертальца, денисовского человека) привело к полному пересмотру представлений о генетических аспектах происхождения анатомически современного человека: происходит переход от моноцентрической гипотезы (гипотеза недавнего африканского происхождения), которая доминировала последние десятилетия, к модели, рассматривающей гибридизацию нескольких поздних видов гоминид в качестве одного из важных механизмов формирования современного человека. Выработка полноценной модели формирования происхождения человека находится в активной фазе. Модель непрерывно изменяется с учетом поступающих новых данных палеогеномики. Не менее динамично развивается область этногенетических реконструкций на основе данных палеогеномики, т.е. реконструкции более поздних процессов эволюции локальных популяций человека, которые привели, в конечном счете, к формированию наблюдаемого в настоящее время многообразия этнокультурных групп. Осуществляются масштабные проекты, посвященные непосредственной реконструкции древних этногенетических процессов с помощью исследования динамики генетического состава населения различных территорий на протяжении последних 10 тысяч лет. Важно подчеркнуть, что использование методов палеогенетики в данной области позволило полноценно объединить возможности генетики, археологии и антропологии в единое научное направление. Такие исследования выполняются для Центральной, Южной и Северо-Восточной Европы, Китая и других регионов. Проект по реконструкции генетической истории голоценовых популяций Западной Сибири и сопредельных регионов Евразии осуществляется при участии автора данного доклада. Существенное развитие получают также такие направления, как молекулярная палеопатология, молекулярная экология человека и некоторые другие. Можно констатировать, что палеогеномика человека превратилась в «горячую точку» развития современной биологии и роль таких исследований будет возрастать.

#### ГЕНОФОНД КОРЕННЫХ НАРОДОВ СИБИРИ: МЕЖРЕГИОНАЛЬНЫЙ И СУБЭТНИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПО МАРКЕРАМ Y-ХРОМОСОМЫ

*Харьков В.Н.\**, *Степанов В.А.*

ФГБУ НИИ медицинской генетики СО РАМН (Томск), Россия  
\*e-mail: vladimir-kharkov@medgenetics.ru

Исследована структура генофонда коренного населения Сибири (N=1875) с помощью 85 диаллельных и 36 STR маркеров Y-хромосомы. Совокупность данных по структуре гаплогрупп Y-хромосомы свидетельствует об общности современного генофонда населения Сибири и наличии в нем значительных региональных различий. Основными чертами обобщенного генофонда Сибири по гаплогруппам Y-хромосомы являются

уменьшение генетического разнообразия при движении с запада на восток и с юга на север и высокая генетическая подразделенность. Установлено, что сибирские этносы характеризуются относительно низким уровнем генетического разнообразия по гаплогруппам Y-хромосомы, по сравнению с европейскими, среднеазиатскими и восточноазиатскими популяциями. В Южной Сибири наблюдается снижение суммарной частоты западноевразийских гаплогрупп в направлении с запада на восток: максимальные значения обнаружены на Алтае, в Саянской группе популяций отмечается уменьшение до 18-30%, в Забайкалье частота не превышает 5%. В популяциях Северо-Восточной Сибири и Дальнего Востока наблюдается отсутствие западноевразийского компонента. Показано, что сибирские популяции выделяются на фоне других евразийских этносов значительно более высоким уровнем межэтнической и межрегиональной генетической дифференциации: общий уровень генетических различий по гаплогруппам Y-хромосомы составляет для Сибири 25,11%. Наименее дифференцированы этносы Южной Сибири (15,05%) и Дальнего Востока (21,57%), а наибольшие значения Fst выявлены среди популяций Восточной Сибири (43,13%). Результаты анализа корреляции матриц свидетельствуют о более значительном вкладе в картину генетических различий географического фактора и о меньшей роли антропологических и лингвистических характеристик популяций в детерминации их генетической вариабельности. Эта зависимость особенно сильно выражена на региональном уровне. Несмотря на значительную степень внутриэтнической подразделенности генофондов, на уровне локальных популяций в пределах субэтносов для северных и южных алтайцев, хакасов и бурят показана значительная генетическая гомогенность и отсутствие статистически значимых отличий между различными выборками в пределах субэтносов и тесных территориальных групп, что свидетельствует о единстве генофонда локальных популяций в пределах исторически сложившихся границ их проживания. Накопление гаплотипического разнообразия в основных гаплогруппах, составляющих большую часть суммарного генофонда сибирских этносов, сопровождалось значительным дрейфом генов и многочисленными событиями популяционного горлышка бутылки. Структура гаплогрупп Y-хромосомы в этнических группах Южной Сибири свидетельствует о периодах резкого роста численности популяций. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда фундаментальных исследований (проекты №12-04-00595а, №13-04-02023а).

#### ГЕНОФОНД НАРОДОВ КРЫМА ПО ДАННЫМ АНАЛИЗА Y-ХРОМОСОМЫ, мтДНК И ПОЛНОГЕНОМНЫХ ПАНЕЛЕЙ МАРКЕРОВ

*Агджоян А.Т.\*<sup>1</sup>*, *Чухряева М.И.<sup>1,2</sup>*, *Дибирова Х.Д.<sup>2</sup>*, *Утевская О.М.<sup>3</sup>*, *Кушнеревич Е.И.<sup>4</sup>*, *Атраментова Л.А.<sup>3</sup>*, *Виллемс Р.<sup>2</sup>*, *Балановская Е.В.<sup>2</sup>*, *Балановский О.П.<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup>ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН (Москва), Россия;

<sup>3</sup>Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина (Харьков), Украина;

<sup>4</sup>Эстонский биоцентр (Тарту), Эстония

\*e-mail: aagdzhojan@gmail.com

Крымские греки являются далекими наследниками античных древнегреческих и последующих греческих переселенцев из Византии. Другой народ Крыма - крымские татары - сформировались в результате миграции степных кочевников в XIV веке, которые отчасти включили в свой состав более раннее население полуострова. Для надежной реконструкции происхож-

дения этих народов Крыма использованы наиболее информативные современные системы генетических маркеров: полногеномные панели аутомомных SNP-маркеров, полные сиквенсы митохондриальной ДНК и филогенетически глубокий анализ Y-хромосомы. Проанализировано 400 образцов ДНК, полученных от неродственных между собой мужчин – представителей трех субэтнотипов крымских татар и двух субэтнотипов крымских греков. Гаплогруппы Y-хромосомы определены с высоким разрешением в результате анализа 40 филогенетически наиболее информативных SNP-маркеров, а изменчивость внутри гаплогрупп охарактеризована по 17 STR-маркерам. Представители всех 5 субэтнотипов генотипированы по 1 000 000 SNP-маркеров с использованием Illumina Human 1M-Duo BeadChip. Результаты анализа маркеров и Y-хромосомы (многомерное шкалирование, кластерный анализ, карты генетических расстояний), и аутомомного генома (метод главных компонент) выявили идентичные закономерности в структуре генофонда исследованных групп. Обнаружено, что степной субэтнотип крымских татар генетически приближен к народам Евразийской степи и Приуралья; генофонд горных и южнобережных крымских татар и обеих групп крымских греков сходен с популяциями Восточного Средиземноморья (в особенности греков и турков); не выявляется сходство народов Крыма с их географическими соседями – русскими и украинцами. Эти результаты геномных исследований указывают на сохранение в генофонде Крыма первоначального «греческого» компонента на протяжении более 2,5 тысяч лет, при частичном влиянии «степного» компонента в северных районах Крыма. Исследование поддержано грантами РФФИ №13-06-00670\_а, №13-04-01711\_а, 13-04-90420\_укр\_ф\_а и программами Президиума РАН «Динамика генофондов» и «Молекулярная и клеточная биология».

#### НАСЛЕДСТВЕННАЯ ГЛУХОТА В РЕГИОНАХ СИБИРИ: РЕСПУБЛИКИ АЛТАЙ И ТЫВА

**Посух О.Л.** <sup>\*,1,2</sup>, **Бады-Хоо М.С.** <sup>1,3</sup>, **Бондарь А.А.** <sup>4</sup>, **Морозов И.В.** <sup>4</sup>, **Барашков Н.А.** <sup>5,6</sup>, **Зыцарь М.В.** <sup>1,2</sup>, **Михальская В.Ю.** <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет (Новосибирск), Россия;

<sup>3</sup>ГБУЗ РТ Республиканская больница №3 (Кызыл), Россия;

<sup>4</sup>ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>5</sup>ФГБУ «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем» СО РАН (Якутск), Россия;

<sup>6</sup>ФГАОУ ВПО Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова (Якутск), Россия

\*e-mail: posukh@bionet.nsc.ru

Генетический контроль несиндромальной потери слуха характеризуется уникальной гетерогенностью: в настоящее время известно более сотни генетических локусов, ассоциированных с этой патологией, и около 70 генов, мутации которых приводят к потере слуха. Наиболее значим патогенетический вклад мутаций гена *GJB2* (коннексин 26, Сх26). Молекулы Сх26 формируют межклеточные каналы, обеспечивающие ионный обмен в тканях внутреннего уха. При дефектах Сх26, вызванных мутациями гена *GJB2*, происходит необратимая потеря слуха. Спектр, частота встречаемости мутаций гена *GJB2* различаются в разных регионах мира. Оценки патогенетического вклада мутаций других генов, ассоциированных с потерей слуха, в настоящее время получены пока только для ограниченного числа популяций. Генетические формы потери слуха в настоящее

время не поддаются лечению. Получение общей оценки генетической компоненты в этиологии тугоухости / глухоты у населения и выявление региональных особенностей распространенности различных форм «генетической глухоты» являются актуальными задачами как для оценки генетического риска и медико-генетического консультированияотягощенных семей, так и для разработки наиболее эффективных методов молекулярной диагностики этой патологии. В Республиках Алтай и Тыва получены сравнительные эпидемиологические данные о распространенности различных типов и степеней потери слуха. В группах больных с несиндромальной нейросенсорной тугоухостью / глухотой (ННТ) проведен мутационный анализ гена *GJB2*, наиболее значимого в этиологии генетически обусловленной потери слуха, таким образом, получена минимальная оценка генетической компоненты в этиологии ННТ в изучаемых регионах. Полученные результаты свидетельствуют о дифференциации мутационного спектра и патогенетического вклада гена *GJB2* в зависимости от этнической принадлежности пациентов. Оценена частота гетерозиготного носительства мажорных мутаций гена *GJB2* в выборках коренного населения Алтая и Тывы. Работа выполнена при финансовой поддержке грантов ФНМ-30 Президиума РАН, РФФИ №11-04-01221-а, РФФИ №12-04-98520-р\_восток\_а и экспедиционных грантов СО РАН (2010-2013гг).

#### РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ NGS-СЕКВЕНИРОВАНИЯ, ПРЕДНАЗНАЧЕННОЙ ДЛЯ СКРИНИНГА НОВОРОЖДЕННЫХ

**Павлов А.Е.** <sup>\*</sup>, **Брагин А.Г.**, **Буслов К.Г.**, **Зайцева М.А.**, **Симакова Т.С.**

ООО «Парсек Лаб» (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: apavlov@parseq.pro

NGS-секвенирование может стать мощным инструментом для быстрого подтверждения диагноза в условиях неонатального скрининга. Целью данного исследования была разработка высокоэффективного метода ДНК диагностики муковисцидоза, фенилкетонурии и галактоземии на основе технологии полупроводникового секвенирования. Целью разработки было создание тест-системы, приемлемой для рутинной клинической практики. В связи с этим в процессе разработки были поставлены следующие задачи: автоматизация анализа данных, создание инструмента, упрощающего интерпретацию данных, и разработка схемы включения тест-системы в существующие программы неонатального скрининга. Основными трудностями при верификации и валидации тест-системы стали отсутствие референсных материалов для NGS-секвенирования, и отсутствие детальных протоколов проведения верификации и валидации тест-систем, основанных на NGS-секвенировании. Дизайн созданной тест-системы позволяет секвенировать все кодирующие и некоторые клинически-значимые некодирующие регионы трех генов: *CFTR*, *GALT* и *PAH*. Метод основан на технологии таргетного обогащения AmpliSeq и технологии секвенирования Ion PGM. Для анализа данных было разработано собственное программное обеспечение, позволяющее получать результаты с точностью, приемлемой для клинического применения. Программное обеспечение, разработанное с учетом потребностей врача медицинской генетики, производит автоматическую оценку качества данных, отображает результаты анализа, содержит инструменты, помогающие интерпретировать полученные результаты и генерировать медицинский отчет. Для анализа и интерпретации данных создана, курируемая специалистами база данных клинически-значимых мутаций с детальной аннотацией каждого варианта. Текущая версия базы



данных содержит 428 клинически-значимых мутаций в трех генах. Были разработаны детальные протоколы проведения верификации и валидации, в основе которых лежат универсальные принципы, применимые к любым NGS тест-системам. Верификация основана на сравнении результатов NGS теста с данными двустороннего секвенирования по Сангеру. Регион, по которому проводилась верификация, состоял из 38 ампликонов, суммарной длиной 12Kb. Для верификации использовалась выборка из 99 образцов, включающая как клинические случаи, так и образцы от здоровых индивидуумов. Секвенирование по Сангеру проводилось в сертифицированной лаборатории Microsynth (Швейцария). Для сравнения данных секвенирования по Сангеру и NGS-данных было разработано специализированное программное обеспечение, позволившее оценить данные в объеме 1,2Mb по каждому образцу. По результатам верификации были установлены аналитическая чувствительность и специфичность разработанной тест-системы. Эти параметры составили 99,3% и 91,6% соответственно. Валидация тест-системы включала NGS-секвенирование, с последующим анализом данных с помощью разработанного программного обеспечения, 532 клинических образцов в трех независимых лабораториях: IPATIMUP (Португалия), StabVida (Португалия) и CGR (Ливерпуль). По результатам валидации были определены диагностические свойства тест-системы: чувствительность составила 99,6%, специфичность – 100%. При исследовании образцов с поставленным диагнозом и одной выявленной мутацией, было установлено, что аналитическое превосходство NGS тест-системы над ПЦР-методами составляет 47,7%. Мы показали, что стандартные подходы к оценке IVD тестов могут быть применены к тест-системам, основанным на NGS, что согласуется с недавно опубликованным руководством ACMG. Тест-система была зарегистрирована в Евросоюзе как набор для *in vitro* диагностики и получила CE-марку. Таким образом, тест-система, получившая название VariFind Neonatal assay, стала первой зарегистрированной тест-системой на основе технологии полупроводникового секвенирования. Эффективность внедрения NGS-тестирования в программу неонатального скрининга планируется оценить в ходе дальнейших исследований, включающих апробацию решения в рамках федеральной программы неонатального скрининга в России. На основании собранных клинических образцов и данных, полученных в ходе верификации, планируется создание биобанка с референсными материалами для NGS-секвенирования.

#### АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ ГЕТЕРОЗИГОТНОГО НОСИТЕЛЬСТВА И ОЦЕНКА «ВОЗРАСТА» МУТАЦИИ IVS1+1G>A ГЕНА GJB2, ПРИВОДЯЩЕЙ К АУТОСОМНО-РЕЦЕССИВНОЙ ГЛУХОТЕ 1А ТИПА В ПОПУЛЯЦИИ ЯКУТОВ

**Бараишкова Н.А.**<sup>\*1,2</sup>, **Соловьев А.В.**<sup>2</sup>, **Пишеникова В.Г.**<sup>1,2</sup>, **Терютин Ф.М.**<sup>1,2</sup>, **Романов Г.П.**<sup>2</sup>, **Кларов Л.А.**<sup>3</sup>, **Савинова К.Е.**<sup>2</sup>, **Готовцев Н.Н.**<sup>2</sup>, **Рафаилов А.М.**<sup>2</sup>, **Соловьева Н.А.**<sup>1,2</sup>, **Алексеев А.Н.**<sup>4</sup>, **Посух О.Л.**<sup>5,6</sup>, **Джемилева Л.У.**<sup>7</sup>, **Хуснутдинова Э.К.**<sup>7,8</sup>, **Федорова С.А.**<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Якутский научный центр комплексных медицинских проблем» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук (Якутск), Россия;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВПО Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова (Якутск), Россия;

<sup>3</sup>ГБУ РС(Я) «Республиканская больница № 2 – Центр экстренной медицинской помощи» (Якутск), Россия;

<sup>4</sup>ФГБУН Институт гуманитарных исследований и проблем малочисленных народов Севера СО РАН (Якутск), Россия;

<sup>5</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>6</sup>ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследователь-

ский государственный университет (Новосибирск), Россия;

<sup>7</sup>ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Россия;

<sup>8</sup>ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет (Уфа), Россия

\*e-mail: barashkov2004@mail.ru

В работе представлены результаты исследования частоты гетерозиготного носительства мутации IVS1+1G>A гена *GJB2* у 423 здоровых индивидов из 6 популяций Восточной Сибири – якутов, долган, эвенков, эвенов, юкагиров и русских. С наибольшими частотами мутация IVS1+1G>A обнаружена в популяции якутов – 11,7%. Приводятся результаты гаплотипического анализа по 8 STR- и двум SNP-маркерам у 73 пациентов, гомозиготных по мутации IVS1+1G>A, и 106 человек без данной мутации. Показан эффект основателя и рассчитано время начала экспансии предкового гаплотипа с мутацией IVS1+1G>A на территории Якутии. Реконструкция 146 гаплотипов с IVS1+1G>A указывает на единство происхождения всех исследованных мутантных хромосом, идентифицированных у якутов, русских и одного эвенка. Наибольший уровень разнообразия гаплотипов найден в двух субпопуляциях якутов – центральных и виллюйских. Время дивергенции гаплотипа основателя у носителей мутации IVS1+1G>A датировано в интервале ~ от 800 до 4600 лет назад, со средними значениями ~2400±780 лет. Наиболее вероятный период начала экспансии носителей предкового гаплотипа в популяции якутов соответствует началу XIII века (~1200 год), что совпадает с датировкой последней, наиболее обширной волны тюркоязычных мигрантов из более южных регионов Сибири. Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ (12-04-00342-а), (12-04-98520-р\_восток\_а), (12-04-97004-р\_поволжье\_а), Интеграционного проекта СО РАН № 92, а также Гранта Президента РС(Я) им. А.И. Иванова (РП №79 от 08.02.2013 г.).

#### ВЛИЯНИЕ НОКАУТА ГЕНА *KAISO* НА НЕРВНУЮ СИСТЕМУ И ПОВЕДЕНИЕ МЫШЕЙ

**Куликов А.В.**<sup>\*1</sup>, **Куликова Е.А.**<sup>1</sup>, **Хоцкий Н.В.**<sup>1</sup>, **Акулов А.Е.**<sup>1</sup>, **Мошкин М.П.**<sup>1</sup>, **Шумская В.**<sup>2</sup>, **Прохорчук Е.Б.**<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Центр «Биоинженерия» РАН (Москва), Россия

\*e-mail: v\_kulikov@bionet.nsc.ru

Ковалентная модификация ДНК посредством метилирования цитозина в динуклеотидах CG является ключевым механизмом эпигенетической наследования посредством одновременной репрессии транскрипции генов. Эта репрессия осуществляется белками methylated DNA binding proteins (MBD1, MBD2, MBD3 и MeCP2) и Kaiso (Kaiso или ZBTB33, ZBTB4 и ZBTB38), которые связываются с метилированными участками ДНК и препятствуют формированию комплекса РНК полимеразы 2. У человека нокаут гена MeCP2 приводит к тяжелому наследственному заболеванию Rett-синдрому. У мышей нокаут данного гена вызывает снижение моторики и активности дофаминовой системы стриатума и черного вещества. Сотрудниками Центра «Биоинженерия» РАН на основе генома линии C57BL/6 (B6) была получена линия C57BL/6-102/Kaiso (B6-102) с нокаутом гена Kaiso, которая успешно поддерживается в Российском национальном центре генетических ресурсов лабораторных животных на базе SPF виварии Института цитологии и генетики СО РАН. Целью данного исследования было изучение влияния нокаута по гену Kaiso на выраженность различных форм поведения, нейроанатомическую структуру мозга и экспрессию генов в мозге. Для этого проведено сравнение данных характеристик у мышей линий B6-102 и B6. Мыши B6-102 более подвижны и проявляли высокую исследовательскую активность в

тестах открытое поле и новый объект. Не было выявлено различий между животными линий В6-102 и В6 по выраженности тревожности в тестах приподнятого крестообразного лабиринта и свет/темнота. Нокаут оказывал антидепрессантный эффект в тесте принудительного плавания. В то же время, способность к обучению в водном лабиринте Морриса была резко снижена у животных В6-102. С помощью МРТ показано значительное уменьшение объема боковых желудочков мозга у мышей В6-102. Анализ транскриптома и количественная ОТ-ПЦР реального времени выявили значительные изменения в уровне экспрессии генов, кодирующих фермент метаболизма (КОМТ) и рецепторы (D1 и D2) медиатора головного мозга дофамина в стриатуме, свидетельствующие об увеличении активности этой системы в данной структуре у мышей В6-102. Этот результат хорошо согласуется и объясняет гиперактивность мышей В6-102. Полученные данные являются первым доказательством важной роли белка Kaiso в регуляции нервной системы и поведения. Мыши В6-102 являются прекрасной моделью изучения эпигенетической регуляции нервной системы и поведения.

#### СОЗДАНИЕ НОВОЙ ТРАНСГЕННОЙ ЛИНИИ МЫШЕЙ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПРОЦЕССОВ НЕЙРОГЕНЕЗА

**Орищенко К.Е.**<sup>\*1</sup>, **Мензоров А.Г.**<sup>1,2</sup>, **Шевцова А.А.**<sup>2</sup>, **Баттулин Н.Р.**<sup>1</sup>, **Кизилова Е.А.**<sup>1,2</sup>, **Пристяжнюк И.Е.**<sup>1</sup>, **Голубица А.Н.**<sup>1</sup>, **Железова А.И.**<sup>1</sup>, **Матвеева Н.М.**<sup>1</sup>, **Фишман В.С.**<sup>1,2</sup>, **Рубцов Н.Б.**<sup>1,2</sup>, **Серов О.Л.**<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет (Новосибирск), Россия  
\*e-mail: OrishchenkoKE@icg.sbras.ru

Одно из ключевых направлений современной нейробиологии – изучение нейрогенеза. Нейрогенез происходит в процессе эмбрионального и постнатального периода онтогенеза. В нейрогенезе из нейробластов образуются зрелые нейроны. В свою очередь источником нейробластов являются нейральные стволовые клетки, которые располагаются в определенных областях мозга. Изучение механизмов нейрогенеза и факторов, которые регулируют этот процесс, является ключевым для понимания вопросов развития, функционирования и пластичности нервной системы в норме и при патологиях. В настоящее время установлено, что нервные клетки, в связи с особенностями структурно-функциональной организации, содержат ряд специфических белков, ассоциированных с цитоскелетом. Один из таких белков – бета-тубулин III (Tubb3), был выбран нами в качестве маркера нейральной дифференцировки. На первом этапе работы была получена и охарактеризована линия эмбриональных стволовых (ЭС) клеток мыши. Эти клетки имели диплоидное модальное число хромосом и при инъекции в бластоцисту давали вклад во все три зародышевых листка и в зародышевый путь. Для маркирования экспрессии гена Tubb3 при помощи метода направленной модификации генома TALEN (Transcription activator-like effector nuclease) в 3' UTR этого гена вместо стоп-кодона была введена кассета P2A-EGFP-PGK Puго-PA. Таким образом, экспрессию бета-тубулина III можно детектировать по флуоресценции репортерного гена EGFP. После трансфекции ЭС клеток и селекции на пуromицине были получены 18 трансгенных линий клеток. Молекулярный анализ показал встройку трансгена в целевом месте Tubb3 в четырех линиях ЭС клеток. Проверку функциональности трансгена проводили с помощью дифференцировки ЭС клеток в нейральные клетки с использованием стандартного протокола. На 13 день дифференцировки в телах и отростках клеток детектировали экспрессию EGFP. Дифференцировку в нейроны также подтвердили иммуноцитохимическим окрашиванием на

специфический компонент промежуточных микрофиламентов нейронов – NF200. Таким образом, были получены линии трансгенных ЭС клеток, содержащие кассету P2A-EGFP-PGK Puго-PA в 3' UTR гена Tubb3, что позволяет использовать их для изучения процессов нейральной дифференцировки и трансдифференцировки. В дальнейшем мы планируем использовать полученные линии ЭС клеток для создания новой трансгенной линии мышей, что даст возможность исследовать процессы нейрогенеза не только *in vitro*, но и *in vivo*.

#### СОЗДАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ТАУПАТИИ НА ОСНОВЕ СВЕРХЭКСПРЕССИИ ПРОТЕИНКИНАЗЫ GSK-3 BETA В НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

**Тростников М.В.**<sup>\*1</sup>, **Симоненко А.В.**<sup>1</sup>, **Рощина Н.В.**<sup>1</sup>, **Муха Д.В.**<sup>2</sup>, **Пасюкова Е.Г.**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия

\*e-mail: dreamer403@gmail.com

В последние годы для исследования молекулярно-генетических основ различных патологий и скрининга потенциальных лекарств все большее использование находят модели болезней человека, созданные с использованием *Drosophila melanogaster*. Высокий потенциал этих моделей обусловлен их высокой специфичностью, а также особенностями дрозофилы как объекта, пригодного для проведения умеренно массовых скринингов. Гиперфосфорилирование и накопление белка тау в клетках мозга является одним из основных признаков болезни Альцгеймера и ряда других болезней человека, связанных с умственной отсталостью. Таупатии были успешно смоделированы у дрозофилы с помощью сверхэкспрессии у мух гена белка тау быка, нормального и мутантного гена человека и гена дрозофилы. Одним из ключевых белков, участвующих в фосфорилировании тау, является серин-треониновая протеинкиназа GSK-3beta (glycogen synthase kinase-3beta). Создание модели, основанной на сверхэкспрессии различных форм ключевой протеинкиназы, фосфорилирующей тау, дополнит ряд уже существующих моделей и позволит детально исследовать роль этого белка в развитии патологии. Адаптация этих моделей для использования в скринингах потенциальных лекарств позволит повысить специфичность терапии в отношении биомисней, вызывающих гиперфосфорилирование тау. В 2012 мы начали создание молекулярно-генетической модели таупатии на основе трансгенных конструкций, обеспечивающих сверхэкспрессию различных форм протеинкиназы GSK-3β в нервной системе *Drosophila melanogaster*. На основе клонированных кДНК, соответствующих четырем основным формам GSK-3β, были получены трансгенные линии *Drosophila* с увеличенным количеством транскриптов соответствующих форм GSK-3β. Было продемонстрировано, что увеличение по сравнению с нормой количества транскрипта, соответствующего основной, жизненно важной форме GSK-3β, сопряжено с а) снижением выживаемости модельного объекта; б) снижением двигательной активности модельного объекта; в) нарушением структуры и функциональной активности синапсов, соответствующим ожидаемым изменениям, развивающимся при таупатии. Таким образом, свойства полученных линий позволяют обоснованно предположить, что в них будет адекватно воспроизведена патология нервной системы, ассоциированная с таупатией, а мониторинг степени патологии на основе измерения двигательной активности может быть положен в основу тест-систем для скрининга потенциальных лекарственных препаратов.

## ДРОЖЖИ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ГОМЕОСТАЗА ЖЕЛЕЗА И АТАКСИИ ФРИДРЕЙХА

Колтовая Н.А.

Объединенный институт ядерных исследований (Дубна), Россия  
\*e-mail: koltovaya@jinr.ru

Дисфункция митохондрий (энергетической фабрики клетки) является одной из важнейших причин заболеваний человека, таких как миопатии. В общем случае, митохондриальные заболевания проявляются сильнее при локализации дефектных митохондрий в мышцах, мозге, нервной ткани, поскольку эти органы требуют больше всего энергии для выполнения своих функций. В последнее время выделен кластер митохондриальных заболеваний, связанных с гомеостазом железа в клетке, например атаксия Фридрейха. Это аутосомно-рецессивное заболевание, характеризующееся дегенеративным повреждением нервной системы, вследствие нарушения фратаксина, кодируемого геном *FXN*. Фратаксин играет важную роль в работе митохондрий, в частности, в синтезе Fe/S-белков. В отсутствие фратаксина в клетках происходит накопление железа, что вызывает образование свободных радикалов и повреждения ДНК. Следует отметить, что успехи в изучении атаксии Фридрейха обеспечили, во-первых, картирование гена у человека и, во-вторых, использование эволюционно удаленного модельного организма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. У дрожжей был обнаружен гомологичный ген, названный *YFH1*. Хотя было продемонстрировано участие митохондриального матричного фратаксина в гомеостазе железа в митохондриях, но точный механизм остается не вполне изученным.

## ФУНКЦИИ ГЕНА *SWISS-CHEESE DROSOPHILA MELANOGASTER*, ОРТОЛОГА ГЕНА *NTE* ЧЕЛОВЕКА

Сараницева С.В.<sup>\*1</sup>, Кислик Г.А.<sup>1</sup>, Рябова Е.В.<sup>1</sup>, Труш Е.И.<sup>2</sup>, Матийцев Н.П.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>НИЦ «Курчатовский центр» ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Кон斯坦тинова (Гатчина), Россия;

<sup>2</sup>Львовский национальный университет им. И. Франко (Львов), Украина

\*e-mail: svesar1@yandex.ru

Наследственные спастические параплегии (НСП, Hereditary spastic paraplegias (HSPs)) образуют гетерогенную по своим проявлениям группу заболеваний нервной системы, в основе которых лежит прогрессирующий легкий паралич нижних конечностей с повышенным тонусом мышц, вследствие дегенерации пирамидных трактов боковых столбов спинного мозга. Аутосомно-рецессивная форма НСП, SPG39, обусловлена мутациями в гене нейротоксичной эстеразы (NTE), участвующем также в развитии нейропатий связанных с отравлениями фосфорорганическими соединениями (OPIDN). Точные функции NTE и его патогенетическая роль в OPIDN и НСП неизвестны. NTE является консервативным белком от дрожжей до человека, наибольший консерватизм наблюдается для его каталитического домена, определяющего предполагаемую эстеразную активность этого белка. Учитывая сложности работы с материалом, полученным от пациентов, создание моделей на животных в настоящее время является основным экспериментальным подходом в понимании механизмов, прежде всего генетических форм, нейродегенеративных заболеваний. Для понимания роли NTE в развитии нейропатологии при НСП мы исследовали клеточные функции гена *sws Drosophila melanogaster*, ортолога гена *NTE* человека. Для этого мы использовали нейромышечные соединения личинок *Drosophila melanogaster*, которые являются удобной модельной системой для изучения

ранних нейродегенеративных процессов. Мы показали, что *sws* экспрессируется в нейронах и в наибольшей степени в глиальных клетках личинки. Мутации *sws1*, *sws4*, *sws76-15* вызывали изменение морфологии нейромышечных соединений личинок, нарушение распределения в синаптических бутонах пресинаптических белков синаптотагмина 1 и нейронального синаптотренина, а также уменьшение относительного содержания постсинаптического белка dlg. Анализ числа и распределения функциональных митохондрий показал, что у мутантов по гену *sws* уменьшено число митохондрий в аксонах и нейромышечных терминалах. Снижение содержания ацетилированного альфа тубулина у мутантов по гену *sws* сопровождалось уменьшением плотности микротрубочек вблизи ядер мышечных клеток. Полученные нами результаты дают возможность предполагать, что *sws* играет важную роль в формировании и функционировании нейромышечных контактов личинок *Drosophila melanogaster*. Полученные результаты также расширяют наши представления о роли гена нейротоксичной эстеразы в развитии дегенерации аксонов и помогут понять роль последнего в развитии патологии при спастической параплегии. Работа поддержана грантом Российского фонда фундаментальных исследований № 12-04-31723.

## ИНГИБИТОРЫ ЦИКЛООКСИГЕНАЗЫ УВЕЛИЧИВАЮТ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ ОСОБЕЙ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Данилов А.А.<sup>\*1</sup>, Шапошников М.В.<sup>1,2</sup>, Шевченко О.Г.<sup>1</sup>, Омельячук Л.В.<sup>3</sup>, Москалев А.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН (Сыктывкар), Россия;

<sup>2</sup>Сыктывкарский государственный университет (Сыктывкар), Россия;

<sup>3</sup>Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>4</sup>Московский физико-технический институт (государственный университет) (Долгопрудный), Россия

\*e-mail: ritsuko1988@yandex.ru

Циклооксигеназы принимают активное участие в процессах метаболизма арахидоновой кислоты, синтезе простагландинов, процессах воспаления. Усиление воспаления в тканях с возрастом приводит к нарушению их нормального функционирования. Мы предположили, что фармакологическое ингибирование циклооксигеназы способно увеличивать продолжительность жизни модельных животных. У дрозофил функцию циклооксигеназы выполняет пероксидаза *Pxl*. Цель настоящей работы – изучение геропротекторного потенциала специфических ингибиторов циклооксигеназ. Объектом исследования были плодовые мушки *Drosophila melanogaster* линии *Canton-S*. Имаго содержали в стандартных условиях на питательной среде, содержащей ингибиторы циклооксигеназы-1 (аспирин, валерил-салицилат, транс-резвератрол, SC-560), циклооксигеназы-2 (APHS, NS-398, SC-58125, вальдекоксид, CAU10404), циклооксигеназы-1 и циклооксигеназы-2 (ликофелон) в концентрации 1 мМ. Помимо продолжительности жизни оценивали локомоторную активность, плодовитости самок, а также интенсивности процессов ПОЛ. Для статистической обработки данных использовали программы MS Excell, WinModest, Statistica 6.1 и среду для статистической обработки R. Показано, что все ингибиторы, за исключением валерил-салицилата, вызывали увеличение медианы продолжительности жизни (на 3.6-25.5 % у самцов и 5.8-32.7 % у самок), а также возраста 90 % смертности (на 1.3-9.2 % у самцов на 4.1-13.7 % у самок). Наибольший геропротекторный эффект отмечен для аспирина, APHS и NS-398, что подтверждается статистически значимым (до 32.7 %) увеличением продолжительности



жизни при сохранении высокой локомоторной активности и плодовитости дрозофил. Таким образом, нами было показано, что применение ингибиторов циклооксигеназы может увеличивать продолжительность жизни модельных животных, не оказывая отрицательного влияния на ее качество. Исследование выполнено при поддержке гранта «Экологическая генетика продолжительности жизни модельных животных (*Drosophila melanogaster*; *Mus musculus*)» № 12-П-4-1005, гранта РФФИ 11-04-00956, проекта УрО РАН №12-С-4-1019 и проекта СО РАН №81.

**\*С5-01. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ АДАПТАЦИЯ ПОПУЛЯЦИЙ ЧЕЛОВЕКА К ЛОКАЛЬНЫМ УСЛОВИЯМ СРЕДЫ: ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**  
**Боринская С.А.**

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

e-mail: borinskaya@vigg.ru

Различия между популяциями по спектру и частотам аллелей формируются либо в результате событий популяционного уровня (колебания численности и экспансия популяций, метисация и др.), которые затрагивают множество локусов одновременно, либо в результате локус-специфичных процессов (различные виды отбора, направленные на один или несколько локусов, определяющих адаптивный фенотип). Отбор адаптивных фенотипов сопровождается генетической адаптацией - изменением частот аллелей, с которыми эти фенотипы ассоциированы. В качестве факторов отбора, вызывающих изменение частот аллелей при генетической адаптации популяций, могут выступать природные факторы (геоклиматические и биотические), а также особенности среды, сформированные в результате хозяйственно-культурной деятельности человека. В последнее десятилетие интенсивно развиваются подходы к выявлению паттернов вариаций в геноме человека, свидетельствующих о действии отбора. Участки генома, подверженные действию отбора, отличаются по ряду характеристик от участков с нейтральными генетическими вариациями. Недавнее развитие технологий и ресурсов (проекты НарМар, «1000 геномов» и др.) для исследования генетических вариаций человека в беспрецедентном масштабе позволяет исследователям сканировать полные геномы человека в поиске сигналов позитивного отбора. Для многих локусов, выявленных методом геномного сканирования как предполагаемых мишеней отбора, связь с фенотипическими признаками пока не известна. Не известны и факторы отбора этих локусов. В выявлении факторов, вызывающих генетическую адаптацию популяций человека к локальным условиям среды, необходимо сопоставление вариаций частот аллелей в популяциях и наличия потенциального фактора отбора в среде либо интенсивности его действия. Совпадение ареалов действия конкретных факторов среды и высокой частоты тех или иных аллелей позволяет предполагать их связь, но не доказывает. Однако именно такое совпадение может являться основой для выдвижения и дальнейшей проверки гипотез о факторах отбора, влияющих на частоты аллелей в популяциях человека. Прямое доказательство таких гипотез может быть получено, если будет показана связь фенотипа и меры приспособленности (выживаемости или репродуктивного успеха). В докладе будут представлены подходы к выявлению связи межпопуляционных различий частот аллелей генов человека с факторами среды и перспективы развития этих исследований на примере собственных и опубликованных данных.

Работа поддержана грантом РФФИ 13-04-02095 и Программой фундаментальных исследований Президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития» (Подпрограмма «Динамика и сохранение генофондов»).

**С5-02. ФАМИЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КАК ИНСТРУМЕНТ ОЦЕНКИ ДИНАМИКИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИЙ СЕВЕРНЫХ АЛТАЙЦЕВ**

**Ульянова М.В.\*<sup>1</sup>, Лавряшина М.Б.<sup>1</sup>, Николаев В.В.<sup>2</sup>**

*<sup>1</sup>Кемеровский государственный университет (Кемерово), Россия;*

*<sup>2</sup>Институт археологии и этнографии СО РАН (Новосибирск), Россия*

\*e-mail: ulmar2003@mail.ru

Динамика популяционной структуры северных алтайцев, кумандинцев, челканцев и тубаларов, проживающих в Турочакском районе Республики Алтай и Солтонском и Красногорский районах Алтайского края оценивалась по данным фонда фамилий в четырех временных срезах. Проведенный ранее ретроспективный анализ фамильного состава показал изменение структуры этнообразующего блока, состоящего из пяти самых распространенных фамилий, на протяжении столетия на всех исследованных территориях. По данным о частотах фамилий рассчитаны величины генетических расстояний (по Нею, d) между поколениями северных алтайцев, проживающих на различных территориях и построены дендрограммы, отражающие временную трансформацию их генетической структуры. Как и следовало ожидать, во всех исследованных популяциях наиболее дистанцированным от остальных оказалось поколение 1900-х годов. У северных алтайцев Солтонского и Красногорского районов, граничащих между собой, изменение фамильной структуры за столетний период происходило поступательно. Минимальные и близкие величины генетических расстояний получены между поколениями 1970-х 2000-х годов (d=0,28 и d=0,33, соответственно для двух районов), на уровне d=0,6 кластеризуется поколение 1940-х годов. Что касается северных алтайцев Турочакского района, то у них самыми близкими оказались поколения 1940-х и 1970-х годов (d=0,16), а поколение 2000-х годов кластеризуется с ними на уровне d=0,3. В целом, для турочакской популяции зарегистрированы более близкие величины генетических расстояний между поколениями 1940-х, 1970-х и 2000-х годов, чем у северных алтайцев Алтайского края. Ранее нами было показано, что именно Турочакский район характеризуется наиболее стабильной фамильной структурой, в период с 1940-х по 2000-е годы здесь сохраняются три из пяти чистых фамилий. Обнаруженные с помощью фамильного анализа особенности генетической трансформации различных североалтайских популяций зависят от особенностей миграционных, ассимиляционных и демографических процессов, протекающих на различных территориях проживания северных алтайцев.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ 13-06-00821а, РФФИ № 13-06-98014 и Соглашения с АКО № 19.

**С5-03. ПРОБЛЕМА СОЗДАНИЯ РЕФЕРЕНТНЫХ БАЗ ДАННЫХ ДЛЯ ДНК-ИДЕНТИФИКАЦИИ В СВЯЗИ С ГЕНЕТИКО-ДЕМОГРАФИЧЕСКИМИ ПРОЦЕССАМИ В МЕГАПОЛИСАХ**

**Удина И.Г.\*<sup>1</sup>, Курбатова О.Л.<sup>1</sup>, Цыбовский И.С.<sup>2</sup>,**

**Веремейчик В.М.<sup>2</sup>, Победоносцева Е.Ю.<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия;*

*<sup>2</sup>Научно-практический центр Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь (Минск), Беларусь*

\*e-mail: irina\_udina@mail.ru

Референтные базы данных служат основой для судебно-медицинских экспертиз по ДНК-идентификации личности (например, при установлении отцовства или при идентификации жертв различных катастроф, цунами, терактов, останков погибших на войне) для интерпретации вероятностных оценок полученных

результатов. Данное исследование проведено в связи с проблемой создания референтных баз данных для населения мегаполисов. Проведено анкетирование практически здоровых жителей трех городов: Москвы, Харькова и Минска с целью выяснения сведений о месте и годе рождения, национальности самих анкетированных, их родителей и более отдаленных предков. На основе данных анкетирования для каждого города были сформированы выборки представителей наиболее многочисленной национальности (белорусы Минска, русские Москвы и украинцы Харькова), которые были изучены по панели из 17 аутосомных судебных микросателлитов (vWA, TH01, TPOX, CSF1PO, D5S818, D7S820, D13S317, D16S539, D18S51, D8S1179, D21S11, FGA, PentaE, PentaD, D2S1338, D19S433, D3S1758). Достоверных различий по всей совокупности аутосомных локусов не выявлено. Определены основные генетико-демографические параметры популяций мегаполисов (интенсивность и дальность миграции, этнический состав, структура браков), которые рассмотрены в связи с проблемой создания референтных баз данных для ДНК-идентификации. Области миграционного притяжения рассмотренных мегаполисов различаются и по размерам и составу территории, что накладывает отпечаток на этнический состав населения и обуславливает своеобразие генофонда. Этнический состав населения отражает общественно-политический статус города – в столице России 85% русских, в столице Беларуси 85% белорусов, в Харькове, одном из наиболее крупных городов Украины, 62% украинцев. Установлены коэффициенты миграции для Москвы (0,55), для Минска (0,40) и для Харькова (0,55) и оценки среднего радиуса миграций  $774,43 \pm 61,52$  км,  $563,73 \pm 82,87$  км и  $921,46 \pm 144,33$  км, соответственно. Установленные особенности этно-демографических процессов в трех мегаполисах информативны для формирования референтных баз данных. Очевидно, что без учета особенностей сложной и динамичной популяционной структуры мегаполиса (этнический состав, количественные и качественные параметры миграции, структура браков) невозможно грамотное формирование выборки как для создания референтных баз ДНК-данных, так и для исследований методами «маркерной» генетики.

#### C5-04. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОРМИРОВАНИЯ РАННЕГО АЛКОГОЛИЗМА

*Голоенко И.М.* <sup>\*1</sup>, *Копытов А.В.* <sup>2</sup>, *Синявская М.Г.* <sup>1</sup>, *Аксенова Е.А.* <sup>1</sup>, *Кондратенко А.С.* <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (Минск) Беларусь;

<sup>2</sup>Белорусский государственный медицинский университет МЗ РБ (Минск), Беларусь

\*e-mail: cytoplasmic@mail.ru

Актуальность проблемы раннего алкоголизма с каждым годом, к сожалению, возрастает. Число подростков до 18 лет, состоящих на учете по поводу синдрома алкогольной зависимости (АЗ) в Беларуси в 2011г. превышало 17000, а в 2013 составляло 18900. Успешность профилактики алкоголизма в подростковом возрасте зависит от формирования представлений о причинно-следственных взаимодействиях средовых и генетических факторов, вовлеченных в его развитие. Целью настоящего исследования являлось изучение распределения частот аллелей и генотипов 6 полиморфных локусов DRD2 (rs1800497), DAT (VNTR), SLC6A4 (5HTTLPR), GABRA2A (rs279826), MAOA (LPR), COMT (rs4680) генов дофаминовой, серотониновой и ГАМК нейромедиаторных систем головного мозга в группах мужчин различного возраста. Исследование проводили в контрольной группе (КГ) 130 психически здоровых лиц, (средний возраст -  $20,9 \pm 0,23$  лет), основной группе (ОГ) 228 лиц с синдромом алкогольной зависимости до 25 лет (средний возраст

$21,3 \pm 0,28$  лет), группе сравнения (ГС) у 143 лиц с синдромом алкогольной зависимости после 30 лет (средний возраст  $36,17 \pm 0,69$  лет). Анализ распределения частот аллелей и генотипов исследованных полиморфных локусов не обнаружил достоверных различий между группами. Однако, сравнительный анализ частот генотипов с учетом средовых факторов внутрисемейных отношений (отношений между родителями, отношений родителей к ребенку, наличия физических наказаний, условий воспитания) и уровня стрессоустойчивости обнаружил достоверные различия. Например, среди пациентов с ранним началом формирования АЗ в семьях с периодическими и постоянными конфликтами достоверно выше наблюдается частота генотипов и аллелей по полиморфным локусам генов: DRD2 (A2A2(p=0,002) и A2(p=0,002); SLC6A4 (SS (p=0,02), SL(p=0,002), S (p=0,0001); COMT (HL(p=0,0004), LL(p=0,04). В семьях с частыми физическими наказаниями генетическими факторами риска развития ранней АЗ выступают генотипы и аллели: A1A2 (p=0,02), A2A2(p=0,01) гена DRD2; AA (p=0,05) и A(p=0,004) гена GABRA2A; HL(p=0,003) гена COMT; 4R (p=0,02) гена MAOA; 10R (p=0,002) гена DAT. Предполагается, что на фоне взаимодействия различных факторов среды, формирующих фенотип предрасположенности к ранней АЗ, существуют группы генетического риска по генотипам и аллелям отдельных генов. Генетические профили, представленные этими генами, вероятно, являются отличными от таковых для формирования поздней АЗ. Исследования в этом направлении будут способствовать разработке более направленных профилактических мероприятий.

#### C5-05. ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ СВЕРТЫВАЮЩЕЙ СИСТЕМЫ КРОВИ В МОРДОВСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

*Трофимов В.А.* <sup>\*</sup>, *Аксенова О.Н.*, *Ромашкина М.В.*, *Кудряшова В.И.*, *Пивкина А.В.*, *Автайкина Е.А.*  
ФГБОУ ВПО Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва (Саранск), Россия  
\*e-mail: geneticlab@yandex.ru

Тромбозирование как артериальных, так и венозных сосудов играет большую роль в патогенезе наиболее частых и опасных заболеваний человека. В связи с наличием ряда генетически обусловленных дефектов гемостаза, предрасполагающих к тромбозу (мутация гена фактора V Leiden, мутация генов протромбина, FVII, FX и других) стало возможным раннее выявление предрасположенности к тромбозам и предупреждение случаев тромботических осложнений. Полиморфизмы генов F5, F2 вносят большой вклад в развитие заболеваний сердечно-сосудистой системы из-за нарушений в свертывающей системе крови. Нами проведено генетическое тестирование полиморфизмов генов F5, F2 у населения Республики Мордовия. Для полиморфизма G20210A в гене F2 частота нормального гомозиготного генотипа G/G в группе больных практически одинакова, что и в группе контроля - 30,31% против 30%. А встречаемость гетерозиготного носительства в группе обследованных больных ниже, чем в группе контроля. Однако встречаемость гомозиготы A/A по полиморфизму в группе пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями возрастает. Частота патологического аллеля A в группе обследованных больных составляет 47,73% по сравнению с контролем 41,67%. Для полиморфизма G1691A в гене F5 частота нормального гомозиготного генотипа G/G в группе больных ниже, чем в контроле 35,49% против 45%. Однако встречаемость гетерозиготного носительства в группе больных выше. Гомозиготы A/A по полиморфизму найдены и в выборке обследованных больных и здоровых. Частота патологического аллеля A в группе больных

составляет 37,09% по сравнению с контролем 31,67. На основании полученных данных можно заключить, что исследованные гены имеют важное прогностическое значение и могут применяться для диагностики наследственной предрасположенности к сердечно-сосудистым заболеваниям. Выявление мутантных аллелей генов может являться основанием для проведения профилактических мероприятий, направленных на снижение риска раннего проявления заболевания. Известно, что развитие сердечно-сосудистой патологии может начинаться формироваться в детском возрасте и является достаточно устойчивым в дальнейшей жизни. Согласно современным представлениям, своевременно проведенные профилактические мероприятия могут предотвратить более половины случаев преждевременного развития ишемической болезни сердца и смертельного исхода.

#### **C5-06. АССОЦИАТИВНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКЕ: БУДУЩИЕ ПЕРСПЕКТИВЫ**

**Климов Е.А.**<sup>\*,1,2</sup>, **Рудько О.И.**<sup>1</sup>, **Кокаева З.Г.**<sup>1</sup>, **Соболев В.В.**<sup>2</sup>, **Кондратьева Н.С.**<sup>1</sup>, **Афончикова Е.В.**<sup>1</sup>, **Кочеткова Т.О.**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет (Москва), Россия;

<sup>2</sup>Университетская диагностическая лаборатория (Москва), Россия

\*e-mail: klimov\_eugeny@mail.ru

Большинство заболеваний и различия в восприимчивости к действию лекарств обусловлены множеством факторов, как генетических (гены и их продукты), так и негенетических (факторы окружающей среды, образ жизни и др.). Практически любое хроническое заболевание человека, начиная от онкологии и ИБС и кончая заболеваниями психоэмоциональной сферы можно рассматривать с позиции его многофакторности. Исследования в области генетики многофакторных заболеваний находятся в настоящее время в определенной стагнации. Поиск ассоциаций единичных генов с многофакторными заболеваниями не принес успеха, также как нет заметных успехов в поиске комплексных генотипов. Полногеномные ассоциативные исследования (GWAS) позволяют получать большое количество данных о полиморфных локусах генома, однако успехи этого подхода далеки от ожидаемых. На наш взгляд, наиболее перспективна стратегия изучения генетики многофакторных заболеваний основанная на поиске ассоциаций не с заболеванием в целом, а с конкретными клиническими характеристиками. Знание особенностей наследования клинических характеристик, составляющих общую картину заболевания, позволяет верифицировать сложный диагноз с использованием молекулярно-генетических методов. Также знание генотипа, определяющего наличие клинической характеристики, позволяет прогнозировать течение заболевания и определять точки воздействия лекарственных средств, что нужно для подбора адекватной терапии. Это подтверждают наши исследования в области генетики мигрени и тревожных расстройств, впервые показавшие достоверную ассоциацию изучаемых аллелей с отдельными клиническими характеристиками. Справедливость данного подхода к изучению многофакторных заболеваний также подтверждают немногочисленные пока работы других научных коллективов. Помимо выявленных ассоциаций, так же необходим детальный анализ функций продукта гена, в первую очередь построение сигнальных путей с участием изучаемого гена и ведущих к проявлению клинического признака, что позволит выявлять новые мишени лекарственных средств. Данный комплексный подход позволит добиться значительных успехов в изучении биологии и генетики многофакторных заболеваний.

#### **C5-07. ВОЗМОЖНОСТИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ТЕЧЕНИЯ НЕЙРОБЛАСТОМЫ С УЧЕТОМ ТИПА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК В ПЕРВИЧНОЙ ТКАНЕВОЙ КУЛЬТУРЕ И ДАННЫХ СРАВНИТЕЛЬНОЙ ГЕНОМНОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ**

**Строганова А.М.**<sup>\*</sup>, **Бяхова М.М.**, **Сендерович А.И.**, **Карселадзе А.И.**

ФГБУ «РОИЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН (Москва), Россия

\*e-mail: stroganova\_am@mail.ru

Нейробластома – солидная опухоль детского возраста, характеризующаяся высокой клинической (от спонтанной регрессии и созревания до быстрой прогрессии и метастазирования), клеточной и генетической гетерогенностью. Проведенные нами ранее исследования первичных культур нейробластом позволили выделить 3 основных морфологических типа клеток: N-клетки с нейрональной направленностью дифференцировки, клетки S-типа с терминальной дифференцировкой и клетки I-типа, малодифференцированные клеточные элементы, обладающие цитоморфологическими признаками промежуточными между клетками N- и S-типов – и 4 типа клоногенности: низкий, пониженный, повышенный и высокий. Большинство несбалансированных сегментных хромосомных aberrаций, характерных для нейробластомы, ассоциированы с потерей 1p, 11q, 14q, 3p, 4p, 9p, 12p и увеличениями 2p, 17q плеч хромосом и являются прогностическими факторами при нейробластоме. Задача настоящего исследования – сравнение характеристик первичной тканевой культуры нейробластомы с количеством сегментных хромосомных aberrаций в этом же образце опухоли. Работа была выполнена методом mCGH (метафазная сравнительная геномная гибридизация), который позволяет анализировать несбалансированные хромосомные aberrации, и FISH (флуоресцентная in situ гибридизация). Получены предварительные данные о наличии корреляции между типом клеток в первичной тканевой культуре, уровнем клоногенности и количеством хромосомных aberrаций, характерных для нейробластомы. Образцы нейробластом, в культурах которых присутствовал I-тип клеток, характеризующиеся высоким и повышенным уровнями клоногенности, имели большой набор сегментных хромосомных нарушений в некоторых случаях с амплификацией гена MYCN. Образцы нейробластом, представленные в первичной тканевой культуре S-типом клеток с низким уровнем клоногенности, имели лишь увеличения целых хромосом и 1-2 генетическими aberrациями, что характерно для опухолей с благоприятным клиническим течением. Тактика лечения пациентов с нейробластомой зависит от генетических характеристик опухоли, поэтому совершенствование методологических подходов, которые дают возможность точно определять хромосомные нарушения, ассоциированные с высоким риском опухолевой прогрессии, приведет к правильному и своевременному лечению и четкому пониманию молекулярных событий.

#### **\*C5-08. РОЛЬ ИНАКТИВАЦИИ ГЕНА VHL В РАЗВИТИИ СВЕТЛОКЛЕТОЧНОГО РАКА ПОЧКИ**

**Гилязова И.Р.**<sup>\*,1</sup>, **Кутлыева Л.Р.**<sup>1</sup>, **Павлов В.Н.**<sup>2</sup>, **Халиуллин А.А.**<sup>2</sup>, **Загидуллин А.А.**<sup>2</sup>, **Климентова Е.А.**<sup>3</sup>, **Хуснутдинова Э.К.**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН (Уфа), Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет (Уфа), Россия;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет (Уфа), Россия

\*e-mail: gilyasova\_irina@mail.ru

Рак почки (РП) представляет собой злокачественное новообразование почки различных гистологических типов, на долю



которого приходится примерно 3% из всех онкологических заболеваний. Ежегодно в мире регистрируют около 210 тысяч новых случаев РП, в России более 17 тысяч, в Республике Башкортостан – 400-450 случаев. Наиболее часто встречаемым гистологическим типом почечно-клеточного рака является светлоклеточный РП (70-85% случаев). Одним из его основных событий является инактивация гена-супрессора опухолевого роста фон Хиппеля-Линдау (VHL, von Hippel-Lindau), локализованного на хромосоме 3p25. Целью исследования являлось изучение инактивации гена VHL в результате мутаций, потери гетерозиготности (ЛОН) и метилирования его промотера в опухолевых тканях пациентов со светлоклеточным раком почки. В работе исследовано 93 парных образца ДНК, выделенных из опухолевой ткани почки и соответствующей ей нормальной почечной паренхимы больных светлоклеточным раком почки, проживающих на территории Республики Башкортостан. Выделение геномной ДНК проводили методом последовательной фенольно-хлороформной экстракции. Для анализа мутаций в кодирующей части гена VHL был выполнен SSCP-анализ с последующим секвенированием. Анализ ЛОН проводили с использованием микросателлитных локусов D3S1038 и D3S1317, расположенных на хромосоме 3. По литературным данным, частота соматических мутаций в гене VHL у больных спорадическим светлоклеточным раком варьирует в пределах 18-82% случаев. Нами идентифицированы мутации в гене VHL в 22,6% случаев. Впервые идентифицированы одиннадцать соматических мутаций, не описанных в литературе ранее. Все выявленные мутации были соматическими. Общая частота впервые выявленных мутаций у пациентов со СРП составила 50% (11/22 случаев). Информативность локусов при анализе ЛОН составила для D3S1038 – 76,3% (71/93), D3S1317 – 53,8% (50/93). ЛОН в D3S1038 была обнаружена в 25,3%, в D3S1317 – 28% (27/83 и 14/50, соответственно) информативных случаев. Аберрантное метилирование CpG-островков промоторной области гена VHL обнаружено в 5 образцах ДНК опухолей, что составляет 3,8% случаев. Исследование инактивации гена VHL при СРП, в т.ч. идентификация соматических мутаций может быть полезна как для определения прогноза заболевания, так и для принятия решения о таргетной терапии.

#### C5-09. ПРИЗНАКИ ГЕНОМНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ В ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ РАКЕ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

*Савина Н.В.\*<sup>1</sup>, Ролевич А.И.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси (Минск), Республика Беларусь;

<sup>2</sup>Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова (Минск), Республика Беларусь

\*e-mail: N.Savina@igc.bas-net.by

Известно, что канцерогенез ассоциирован с геномной нестабильностью соматических клеток. Увеличенная частота аберраций хромосом и микроядер в лимфоцитах периферической крови служит цитогенетическим маркером предрасположенности к раку. Прогрессия рака мочевого пузыря (РМП) сопровождается повышением уровня митотической рекомбинации в опухолевых клетках. *ATM-Chk2-p53* сигнальный путь активизируется на пресимптоматических стадиях образования опухолей, указывая на индукцию повреждений ДНК в качестве предвестника геномной нестабильности и канцерогенеза. В данной работе, оценивалась целостность генома лимфоцитов периферической крови пациентов с РМП по сравнению с контрольной группой здоровых доноров, а также с группами пожилых людей (старше 60-ти лет) и лиц с хроническими вос-

палительными заболеваниями в стадии ремиссии. Лимфоциты выделяли из образцов венозной крови, обрабатывали пероксидом водорода ( $H_2O_2$ , 100 мкМ в течение 1 мин при 4°C). Затем готовили препараты для последующего электрофореза и учета повреждений ДНК методом ДНК-комет. Кинетику и эффективность репарации ДНК определяли на 0, 30, 60 и 180-й мин после экспозиции лимфоцитов  $H_2O_2$ . Эндогенные повреждения ДНК регистрировали в необработанных лимфоцитах на 180-й мин инкубации при 37°C. Средние уровни эндогенных повреждений ДНК, также как и эффективность репарации ДНК у пациентов с РМП не отличались от тех же показателей в контрольной группе, тогда как клеточный ответ на окислительный стресс, вызванный  $H_2O_2$  *in vitro*, при РМП был существенно выше, чем во всех группах лиц без онкопатологии. Кроме оценки средних параметров, определялась пропорция индивидуумов с увеличенной чувствительностью лимфоцитов к повреждениям ДНК путем сравнения индивидуальных данных с вычисленными заранее референтными интервалами. Среди пациентов с РМП 50% оказались чувствительны к индукции повреждений ДНК в лимфоцитах, тогда как 26,7% таких индивидуумов встречались среди пожилых людей и пациентов с хроническими воспалительными заболеваниями, и только 14% – в контрольной группе здоровых доноров. Следовательно, благодаря двум независимым подходам, у пациентов с РМП удалось выявить аномальный ответ лимфоцитов на окислительный стресс. Повышенный начальный уровень  $H_2O_2$ -индуцированных повреждений ДНК в изолированных лимфоцитах, который, по-видимому, обусловлен нарушением редокс-гомеостаза, можно рассматривать как ранний биомаркер онкопатологии.

#### C5-10. ПРЕВАЛИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА РЕПАРАЦИИ XPD НА РИСК ВОЗНИКНОВЕНИЯ РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

*Никитченко Н.В.\*<sup>1</sup>, Кузир Т.Д.*

<sup>1</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (Минск),

Республика Беларусь

\*e-mail: N.Nikitchenko@igc.bas-net.by

Известно, что накопление повреждений ДНК в связи с нарастающим окислительным стрессом и воздействием генотоксикантов внешней среды вносит существенный вклад в канцерогенез. Восстановление поврежденной ДНК осуществляется репарационными системами. Мутации в некоторых ответственных за этот процесс генах приводят к синдромам хромосомной нестабильности, которые сопряжены с выраженной склонностью к опухолеобразованию. Среди них – пигментная ксеродерма, которая практически в 100% случаев сопровождается раком кожи. При изучении молекулярно-генетических механизмов этого заболевания выявлены гены группы *XP*, контролирующие оба пути эксцизионной репарации нуклеотидов. В репарации, связанной с транскрипцией, также задействованы гены, ассоциированные с синдромом Коккейна (*CSA*, *CSB*). К генам эксцизионной репарации оснований относятся *XRCC1* и *hOGG1*; последний кодирует 8-оксигуанин-ДНК-гликозилазу, исправляющую окисленные основания ДНК. Поскольку аллельные варианты генов репарации способны модифицировать активность репарационных систем, предполагается, что полиморфизм этих генов может быть фактором риска развития онкологической патологии и, наоборот, полноценное функционирование репарационных систем, вероятно, защищает клетки от малигнизации. Нами с помощью ПЦР-ПДРФ анализа изучен полиморфизм генов эксцизионной репарации *XPB Asp312Asn*, *XRCC1 Arg399Gln*, *hOGG1 Ser326Cys*, *ERCC6 (CSB) Met1097Val* в группе паци-

ентов, страдающих раком мочевого пузыря (РМП – 336 человек), по сравнению с контролем (370 человек). У населения Беларуси частоты минорных аллелей, близкие или аналогичные частотам их распространения в странах Европы и Северной Америки, существенно отличались от показателей, характерных для стран Азии. Анализ полиморфизма отдельных генов выявил повышение риска РМП у носителей гетерозиготного генотипа Asp/Asn гена *XPD*, что особенно ярко проявлялось в старческом возрасте ( $OR_{95\%CI}=3,34 [1,35-8,28]$   $p=0,009$ ). Выявлен повышенный риск РМП при сочетании гетерозиготного генотипа Asp/Asn с гомозиготами дикого типа генов *hOGG1* ( $OR_{95\%CI}=1,71 [1,23-2,38]$   $p=0,001$ ) или *ERCC6* у женщин ( $p=0,066$ ). Анализ взаимодействия 4-х генов показал, что некоторые комбинации гомозигот дикого типа чаще встречаются в контрольной популяции и реже у пациентов, особенно старческого возраста, свидетельствуя об их защитном эффекте против рака при старении. Комбинация Asn/Asn, Arg/Arg, Cys/Cys, Met/Val повышала риск РМП почти в 10 раз. Таким образом, из 4-х изученных генов эксцизионной репарации выделялся ген *XPD*, полиморфизм которого влиял на канцерогенез, как самостоятельно, так и в сочетании с другими генами репарации.

#### C5-11. СОМАТИЧЕСКИЙ МУТАГЕНЕЗ В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО В СВЯЗИ С ПОЛИМОРФИЗМОМ ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ

**Минина В.И.**<sup>1</sup>, **Мун С.А.**<sup>1</sup>, **Баканова М.А.**<sup>1</sup>, **Рыжкова А.В.**<sup>1</sup>, **Савченко Я.А.**<sup>1</sup>, **Воронина Е.Н.**<sup>2</sup>, **Ермоленко Н.А.**<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт экологии человека СО РАН (Кемерово), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины (Новосибирск), Россия

\*e-mail: vminina@mail.ru

Изучение генетических основ варибельности индивидуальной чувствительности человека к действию мутагенов окружающей среды является одной из актуальных задач современной медицинской генетики. Предполагается, что чувствительность к генотоксическим агентам может быть ассоциирована с наследуемым полиморфизмом эффективности метаболизма мутагенов. Мало известно о том, какие варианты SNP могут быть связаны с уровнем хромосомных aberrаций (ХА) в не-трансформированных клетках онкологических больных. Поэтому целью данного исследования стал анализ уровня хромосомных aberrаций в лимфоцитах крови у больных раком легкого в связи с полиморфизмом в генах ферментов биотрансформации ксенобиотиков. Объектом исследования явились 424 больных раком легкого (РЛ), поступивших на лечение в Кемеровский областной онкологический диспансер и 400 здоровых доноров Кемеровской областной станции переливания крови. Все обследованные подписывали протокол информированного согласия. Кровь забиралась до лечения из локтевой вены в 2 вида вакутейнеров: с ЭДТА (для выделения ДНК) и с гепарином (для культивирования и получения хромосомных препаратов). Выделение ДНК проводили методом фенол-хлороформной экстракции. Полиморфные варианты генов: CYP1A1 T3801C, CYP1A2 163 C>A, GSTM1 del, GSTT1del, GSTP1 A313G анализировали методом real-time PCR. Подготовку препаратов хромосом осуществляли в соответствии со стандартной процедурой: культивирование клеток крови (48 ч.)- гипотоническая обработка 0,55%KCl-фиксация этанол-уксусным фиксатором. Проводили учет частоты метафаз с

хромосомными aberrациями, отдельно учитывали aberrации хромосомного типа и хроматидного типа. Пробелы в число ХА не включали. Было установлено статистически значимое повышение частоты метафаз с ХА в группе больных РЛ ( $3,02 \pm 0,09\%$ ), по сравнению со здоровыми ( $2,00 \pm 0,08\%$ ;  $UM-W=83736$ ,  $p=0,0000001$ ). У больных РЛ с делецией в гене *GSTM1* обнаружено статистически значимое повышение частоты ХА ( $3,11 \pm 0,12\%$ ), по сравнению с обладателями полноценного варианта *GSTM1* «+» ( $2,28 \pm 0,09$ ;  $UM-W=15168,5$ ,  $p=0,000001$ ). Данное повышение было характерно как для aberrаций хроматидного типа ( $p=0,000007$ ), так и хромосомного типа ( $p=0,003406$ ). В группе здоровых доноров генотипы изученных генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков не влияли на хромосомный мутагенез. Таким образом, вклад гена *GSTM1* в мутагенез в лимфоцитах крови оказался значимым только у больных РЛ.

#### C5-12. АНАЛИЗ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ *BRCA1/2* У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В КАБАРДИНО-БАЛКАРИИ

**Биттуева М.М.\***, **Хандохов Т.Х.**, **Даурова Л.В.**, **Паритов А.Ю.**, **Керефова М.К.**

ГОУ ВПО Кабардино-Балкарский государственный университет (Нальчик), Россия

\*e-mail: madbi@mail.ru

Рак молочной железы (РМЖ) относится к наиболее распространенным онкологическим заболеваниям среди женщин. По официальным данным ГБУЗ “Онкологический диспансер” МЗ КБР в 2012 году общее число больных этим заболеванием в Кабардино-Балкарии составило 2172 человек (в среднем 252,7 случаев на 100 тыс. населения). Около десяти процентов всех случаев РМЖ связаны с наследуемыми мутациями в генах *BRCA1* и *BRCA2*. Для семей с наследственной предрасположенностью, обусловленных такими мутациями, характерно появление злокачественных опухолей молочной железы или яичника у нескольких родственников, а также ранний возраст проявления и возникновения билатерального рака молочной железы. Отбор пациентов с РМЖ (в том числе и анкетирование по характеру заболевания) проводился совместно с сотрудниками диспансера. Материалом исследований служили образцы крови женщин, больных раком молочной железы ( $n=150$ ). Контрольную группу составляют женщины, у которых клинически не выявлено это заболевание ( $n=150$ ). В ходе исследования уточнялись данные об этнической принадлежности женщин путем опроса и выяснения национальной принадлежности родителей до третьего поколения. В контрольной и опытной группе были представлены три доминирующие нации, проживающие на территории республики: кабардинцы, балкарцы и русские. Выделение ДНК проводилось с использованием набора реагентов QIAamp DNA Blood MiniKits (фирма “QIAGEN”), при амплификации ДНК использовали набор реагентов для обнаружения мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2*, методом аллель-специфичной полимеразной цепной реакции (фирма “Литех”). Были исследованы мутации *5382insC*, *185delAG*, *4154delA*, *Cys61Gly* гена *BRCA1* и мутация *6174delT* в гене *BRCA2*. Среди больных РМЖ были выявлены случаи носительства всех исследуемых мутаций с разной частотой. Учитывая традиционный характер социума республики, обнаружение мутаций на относительно малочисленной выборке, позволяет предположить, что увеличение уровня заболеваемости в регионе, может быть связано, в том числе, и с распространением высокопенетрантных мутаций в изучаемых генах.

### C5-13. АНАЛИЗ МАРКЕРОВ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ В КЛЕТКАХ ЭПИТЕЛИЯ ЩЕКИ И НОСА И В КЛЕТКАХ ОПУХОЛИ У БОЛЬНЫХ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ

**Бяхова М.М.** <sup>\*1</sup>, **Сычева Л.П.** <sup>1</sup>, **Журков В.С.** <sup>1</sup>, **Селезнева И.И.** <sup>2</sup>, **Космынин А.А.** <sup>2</sup>, **Габуния З.Р.** <sup>2</sup>, **Одишелидзе Н.В.** <sup>2</sup>, **Бяхов М.Ю.** <sup>2</sup>, **Астраханцев А.Ф.** <sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина Минздрава России (Москва), Россия;  
<sup>2</sup>НУЗ Центральная клиническая больница № 2 им. Н.А. Семашко ОАО «РЖД» (Москва), Россия  
\*e-mail: biakhovamm@mail.ru

Микроядра и протрузии, хромосомные аберрации и другие нарушения относят к маркерам биологического эффекта, отражающим генетическую нестабильность при процессах канцерогенеза, и характеризуются повреждением генетического материала клетки, которые приводят к активации онкогенов. Целью нашего исследования было определение цитогенетических показателей: доли клеток с микроядрами, доли клеток с протрузиями и суммы клеток с микроядрами и протрузиями в различных тканях: слизистых оболочках носа и щеки, а так непосредственно в опухолях. Обследовано 30 пациентов с установленными диагнозами: рак желудка, рак толстой кишки и рак прямой кишки Ia,b и IIa,b стадий, у которых были взяты соскобы со щеки и полости носа, а так же сделан мазок во время операции непосредственно из опухоли. Средний возраст пациентов составил 54,3 года. Не было выявлено достоверных различий между цитогенетическими показателями в буккальном и назальном эпителием и клетками самой опухоли. Так, доля клеток с микроядрами в буккальном эпителии составляет 3,5%, в назальном эпителии 4,2% и в клетках опухоли - 3,8%. Отмечается незначительное нарастание доли клеток с протрузиями в клетках опухоли (4,2 %) по сравнению с данным показателем в буккальном эпителии (2,2 %) и в назальном эпителии (3,0 %). В связи с этим имеется небольшое увеличение суммарного показателя доли клеток с микроядрами и протрузиями в клетках опухоли (8,0 %) по сравнению с буккальным эпителием (5,7 %) и назальным эпителием (7,2 %). Таким образом, изменения доли клеток с цитогенетическими нарушениями, отмеченные в клетках буккального и назального эпителия, находящихся вдали от опухоли, статистически не различаются. Это позволяет предположить, что при онкопатологии происходят определенные интегральные процессы, приводящие к нестабильности генома и увеличению доли генетически измененных клеток вдали от места поражения.

### C5-14. МЕТИЛИРОВАНИЕ ПСЕВДОГЕНА *PTENP1* В КАЧЕСТВЕ ПОТЕНЦИАЛЬНОГО МАРКЕРА РАКА ЭНДОМЕТРИЯ

**Коваленко Т.Ф.** <sup>\*1</sup>, **Сорокина А.В.** <sup>2</sup>, **Озолина Л.А.** <sup>3</sup>, **Патрушев Л.И.** <sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ науки Институт биоорганической химии им. академиком М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ Научно-исследовательский институт физико-химической медицины Федерального медико-биологического агентства (Москва), Россия;

<sup>3</sup>ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Москва), Россия

\*e-mail: t\_kov@mail.ru

Мутации в гене опухолевого супрессора *PTEN*, часто выявляемые при различных онкологических заболеваниях, особенно

характерны для рака эндометрия. Процессированный псевдоген *PTENP1*, высокомолекулярный гену *PTEN*, активно транскрибируется в клетках разных тканей. Согласно последним данным, *PTENP1* является позитивным регулятором экспрессии гена *PTEN*, действие которого реализуется по механизму конкурирующих эндогенных РНК. Согласно этой концепции, транскрипт псевдогена конкурирует с мРНК гена *PTEN* за регуляторные микроРНК, что препятствует подавлению ее трансляции. Можно предположить, что факторы, вызывающие снижение уровня транскрипции *PTENP1*, должны ускорять деградацию или подавлять трансляцию мРНК гена *PTEN* и, как следствие, способствовать развитию патологического процесса. Известно также, что метилирование промоторной области генов ассоциировано с подавлением их транскрипции. В связи с этим, целью данной работы явилось исследование статуса метилирования 5'-концевой последовательности псевдогена *PTENP1* при раке и гиперплазиях эндометрия. В работе были использованы образцы опухолевых тканей 70 пациенток Российского онкологического научного центра им. Н.Н. Блохина РАМН, а также ткань эндометрия 20 здоровых женщин и периферическая венозная кровь 20 здоровых доноров. Геномную ДНК выделяли при помощи стандартных процедур. Статус метилирования псевдогена *PTENP1* исследовали методом метилчувствительной ПЦР. Нами было установлено, что 5'-концевая область псевдогена *PTENP1* метилирована у 22 из 35 больных раком эндометрия и у 18 из 35 пациенток с гиперпластическими процессами эндометрия. В случае немалигнизированной ткани эндометрия метилирование было обнаружено в одном из 20 образцов и не было выявлено ни в одном образце ДНК, выделенной из крови здоровых доноров. Полученные данные позволяют предположить, что аберрантное подавление транскрипции псевдогена *PTENP1* посредством его метилирования может вносить вклад в патогенез рака эндометрия, а само метилирование псевдогена рассматривается нами в качестве возможного нового маркера этого заболевания.

### C5-15. АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ МЕТАБОЛИЗМА С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЖЕНСКОЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

**Иванова Т.И.** <sup>\*</sup>, **Мкртчян Л.С.**, **Сыченкова Н.И.**, **Полужктова М.В.**, **Хорохорина В.А.**, **Чиркова Т.В.**, **Воробьева О.А.**, **Крикунова Л.И.**

ФГБУ МРНЦ Минздрава России (Обнинск), Россия

\*e-mail: stasia14@yandex.ru

По данным Всемирной организации здравоохранения рака матки и яичников занимают 4 и 5 место в структуре онкологических заболеваний женского населения Европейского региона. Накоплены достаточные знания о роли метаболизма липидов, эстрогенов, железа, оксидативного стресса в индивидуальной предрасположенности к этим формам рака. Известно, что онкологические заболевания, как и другие многофакторные болезни, в значительной степени обусловлены генетическим полиморфизмом функционально важных генов, участвующих в изрядном числе биохимических процессов. Полиморфизмы одного гена могут быть ассоциированными с разными многофакторными заболеваниями. Для многих генов, ассоциированных с нейродегенеративными или иммунопролиферативными болезнями, была показана вовлеченность в неопластические процессы. Цель данной работы – проанализировать роль известных полиморфных вариантов генов аполиipoproteина E (*APOE*, *rs7412*, *rs429358*), параоксоназы 1 (*PON1*, *rs662*), гемохроматоза (*HFE*, *rs1800562*, *rs1799945*), трансферрина (*Tf*, *rs1049296*), катехол-О-метилтрансферазы (*COMT*, *rs4680*) в возникновении онкологических заболеваний женской репродуктивной системы. Объектом исследования являлись группы из 148 женщин больных раком эндометрия, 76



женщин с гиперплазией эндометрия, 161 – с диагнозом рак яичников. Контрольную группу составили 270 здоровых женщин, не имевших в анамнезе гинекологических заболеваний. Для генотипирования использовали методику полимеразной цепной реакции с последующим рестрикционным анализом. Статистический анализ проводили с помощью пакета программ «GraphPad Prism7». При сравнении аллельных частот применялся точный двусторонний критерий Фишера. Вклады различных аллелей в заболеваемость оценивались с помощью показателя отношения шансов (OR) и его 95% доверительного интервала (CI). В результате проведенного анализа у больных женщин выявлено достоверное увеличение частоты двух вариантных аллелей. В группах «гиперплазия эндометрия» и «рак яичников» обнаружено достоверное увеличение частоты аллеля *E4* гена *АПОЕ* (rs 429358) по сравнению с контролем (18%,  $P=0,0018$ ,  $OR=2,18$ ,  $CI 1.350 - 3.525$  и 16%,  $P=0,003$ ,  $OR=1,93$ ,  $CI 1.262 - 2.959$  соответственно; контроль 9%). У больных раком эндометрия обнаружено достоверное увеличение частоты полиморфного аллеля гена *PON1* (33%,  $P=0,0042$ ,  $OR=1,67$ ,  $CI 1.177 - 2.370$ ; контроль 25%). По остальным исследованным полиморфным сайтам достоверных различий не выявлено. На основании полученных данных показана ассоциация вариантного аллеля *E4* гена *АПОЕ* (rs429358) с гиперплазией эндометрия и раком яичников; и полиморфного варианта гена *PON1* (rs662) с раком эндометрия.

#### C5-16. УНИКАЛЬНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА *CYP21A2*, КОДИРУЮЩЕГО 21-ГИДРОКСИЛАЗУ, У ПАЦИЕНТОК С ПРИЗНАКАМИ ГИПЕРАНДРОГЕНИИ: ВОЗМОЖНОЕ УЧАСТИЕ микроРНК В РАЗВИТИИ СИМПТОМОВ ЗАБОЛЕВАНИЯ

**Баранник А.П.**\*,<sup>1</sup>, **Озольня Л.А.**<sup>2</sup>, **Шилов И.А.**<sup>3</sup>, **Патрушев Л.И.**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Москва), Россия;

<sup>3</sup>ГУ Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН (Москва), Россия

\*e-mail: abarannik@mx.ibch.ru

Гиперандрогения – патологическое состояние, характеризующееся повышенным уровнем мужских половых гормонов в организме женщины. Гиперандрогения часто является одним из симптомов врожденной гиперплазии коры надпочечников (ВГКН) (OMIM 201910), аутосомно-рецессивного заболевания, которое в 95% случаев связано с дефицитом фермента стероид-21-гидроксилазы (EC 1.14.99.10), кодируемого геном *CYP21A2*. Ранее в нашей группе была разработана система ДНК-диагностики гена *CYP21A2* на основе аллель-специфической ПЦР в режиме реального времени для обнаружения девяти наиболее часто встречающихся мутаций в гене *CYP21A2*, ассоциированных с исследуемым фенотипом. С помощью этого метода мы исследовали ген *CYP21A2* у 15 пациенток с клиническими признаками гиперандрогении и обнаружили только один аллель, содержащий нонсенс мутацию-318GlnX (rs7755898). Поэтому исследование было продолжено с применением прямого секвенирования полноразмерного гена *CYP21A2* методом Сэнгера у 15 вышеупомянутых пациенток, а также 17 здоровых женщин контрольной группы. В результате всего было обнаружено 30 полиморфизмов, один из которых ранее не был описан, а 27 относятся к известным нормальным вариантам гена. При этом в гене *CYP21A2* у пациенток из контрольной группы отсутствовали шесть SNP (rs6450, rs6451, rs59064806, rs6453 и rs35147842, локализованные в интроне 2 и в норме присутствующие в псевдогене, а также новый SNP экзона 8), которые были выявлены у пяти из 15 обследован-

ных пациенток. Ген *CYP21A2* каждой из этих женщин обладал уникальным набором полиморфизмов. Сравнение последовательностей гена во всех секвенированных нами образцах ДНК выявило достоверные различия в частотах аллелей двух SNV, локализованных в интроне 2. Еще два обнаруженных аллельных варианта того же интрона оказались свойственными только пациенткам, у которых они входили в состав специфических гаплотипов. Компьютерный анализ гена *CYP21A2* выявил в интроне 2 последовательность предполагаемого предшественника мРНК, которая включала в себя большинство вышеупомянутых SNV. Мы предполагаем, что характерные гаплотипы интрона 2 гена *CYP21A2* через РНК-интерференцию могут оказывать влияние на биосинтез стероидных гормонов и иметь отношение к этиологии гиперандрогении у обследованных пациенток.

#### C5-17. МУТАЦИИ ГЕНОВ *BRCAl/2* И SNP ГЕНОВ ОСНОВНЫХ ПРО- И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ ПРИ НЕОПЛАЗИЯХ ЖЕНСКИХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ОРГАНОВ

**Анохина Е.Н.**\*, **Тугуз А.Р.**, **Руденко К.А.**, **Муженя Д.В.**

ФГБОУ ВПО Адыгейский государственный университет, НИИ комплексных проблем (Майкон), Россия

\*e-mail: elena.anohina@myrambler.ru

Частоты мутаций генов *BRCAl/2*, повышающие риск развития злокачественных новообразований (ЗНО) женских репродуктивных и других органов распределены неравномерно в мировых популяциях. Актуальность исследования обусловлена поиском информативных маркеров – ранних предикторов неопластических процессов для разных этнических групп. SNP (single nucleotide polymorphisms) генов про- и противовоспалительных цитокинов вовлечены в патофизиологические процессы, включая и канцерогенез: *IL-17(A,F)* – триггерный медиатор воспаления; *IL-12* обуславливает НК-активность; у *IL-2* все пути активации ведут к клеточным онкогенам, а противовоспалительные *IL-4* и *IL-10* снижают экспрессию молекул МНС-II. Цель: этногенетический анализ распределения частот мутаций генов *BRCAl/2*, полиморфных локусов генов *IL-17A*, *IL-17F*, *IL-2*, *IL-4*, *IL-10*, *IL-12B* и их ассоциации с гистотипами, опухолевой прогрессией при ЗНО женских репродуктивных органов у жителей Республики Адыгея. Распределение частот SNP генов *IL-17A* (rs2275913), *IL-17F* (rs763780), *IL-2* (rs2069762), *IL-4* (rs2243250), *IL-10* (rs1800896, rs1800871, rs1800872), *IL-12B* (rs3212227) исследовано в образцах ДНК здоровых женщин (n=148) и больных (n=131) со ЗНО молочной железы (РМЖ), яичников (РЯ), тела и шейки матки (РТМ, РШМ) SNP-методом (НПФ «Литех», «ДНК-Технология»). Статистически значимые различия ( $p \leq 0,05$ ) вычислены с использованием непараметрического метода Фишера (Fisher\_TK.exe, v.2.0). Мутация гена *BRCAl* (5382insC) у больных с РМЖ выявлена в 1,8%. Более значимые результаты получены для SNP промоторных регионов генов цитокинов. В группе русских женщин с РМЖ, РЯ, РШМ и РТМ, по сравнению с донорами, статистически значимо повышены частоты SNP генов цитокинов: *G197* аллель *IL-17A* ( $p=0,017$ ), *589T* – *IL-4* ( $p=0,02$ ), *819T* – *IL-10* ( $p=0,04$ ), *A1188A* генотип и *A1188* аллель *IL-12B* ( $p=0,004$  и  $0,002$ ). ЗНО у адыгов ассоциированы с аллельными вариантами и генотипами *IL-17F* (*His161Arg* генотип,  $p=0,002$ ; *161Arg* аллель,  $p=0,003$ ) и *IL-10* (*592A* аллель,  $p=0,02$ ). При онкопатологии с высокой частотой выявляется «мутантная» *589T* аллель *IL-4*. С низкодифференцированной аденокарциномой ассоциированы SNP *IL-17A* (*G197* аллель,  $p=0,031$ ) и *IL-10* (*G1082*,  $p=0,02$ ). При метастазировании в регионарные лимфатические узлы обнаружено повышение частоты SNP генов *IL-2* (*T330* аллели,  $p=0,03$ ), *IL-4* (*589T* аллели,  $p=0,03$ ) и *IL-10* (*819T*,  $p=0,05$ ), *IL-12B* (*A1188*,  $p=0,04$ ).

### C5-18. ЭНДОМЕТРИАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ КАК ОБЪЕКТ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ВОЗМОЖНЫХ КАРИОТИПИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЖЕНСКОЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

*Шилина М.А.*\*, *Домнина А.П.*, *Земелько В.И.*,  
*Никольский Н.Н.*, *Гринчук Т.М.*

*Институт цитологии РАН (Санкт-Петербург), Россия*

\*e-mail: Shili-mariya@yandex.ru

Целью настоящей работы было сравнить степень стабильности кариотипа линий мезенхимных стволовых клеток человека из десквамированного эндометрия менструальной крови, полученных от 2-х доноров. В анамнезе первого донора был аденомиоз и эрозия шейки матки (линия 04-04), у второго донора (линия 23-04) патологий не наблюдалось. Клетки выделялись и культивировались при одинаковых условиях. В работе использован метод окраски метафазных хромосом дифференциально на G-диски. Кариотипирование производилось на 6-7 пассаже. Хромосомы идентифицировали в соответствии с Атласом хромосом человека (Мамаева, 2002.). Обе линии характеризовались свойствами мультипотентности и имели фибробластоподобную морфологию. Цитогенетический анализ эмСК, полученных от здорового донора, показал, что на момент исследования, в популяции доминировали клетки с нормальным, неперестроенным кариотипом. Хромосомные aberrации (поломки, транслокации) отсутствовали, редко встречаемые изменения копийности хромосомного материала (моносомия, трисомия) носили случайный характер. Анализ эмСК пациентки с диагнозом «аденомиоз, эрозия шейки матки» показал, что только 10% проанализированных клеток имели нормальный кариотип. Структура кариотипического набора остальных клеток была не стабильной. Отклонения от нормы были связаны с нарушением копийности хромосом (моносомия, трисомия) и с наличием aberrантных хромосом, возникших в результате поломок хромосомного материала. Выявленные нарушения в одних случаях носили случайный характер, в других, с участием определенных хромосом, повторялись. Неоднократно поломки были обнаружены в хромосомах 3, 7, 11, 12, трисомия - в хромосомах 1, 3, 6, 7, 21, моносомия - в хромосомах 5, 11, 15-17. Важно, что хромосомы 3, 7 и 11 наблюдались во всех 3-х типах изменений. Полученные данные позволяют сделать вывод, что кариотипическая стабильность эндометриальных мезенхимных стволовых клеток *in vitro* в крайней степени зависит от состояния здоровья донора. Цитогенетический анализ культур эмСК, полученных от доноров с различными патологиями эндометрия, позволит определить, характер кариотипических изменений, в связи с данными заболеваниями. Исследования в этом направлении могут быть полезны в разработке методов терапии заболеваний женской репродуктивной системы.

### C5-19. ДИАГНОСТИКА ПРИЧИН МУЖСКОГО БЕСПЛОДИЯ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА СК И ОСОБЕННОСТЕЙ СЕЛЕКЦИИ СПЕРМАТОЦИТОВ

*Коломиец О.Д.*\*<sup>1</sup>, *Ацаева М.М.*<sup>2</sup>, *Матвеевский С.Н.*<sup>1</sup>,  
*Спангенберг В.Е.*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия;*

<sup>2</sup>*Чеченский государственный университет (Грозный), Россия*

\*e-mail: olkolomiets@mail.ru

Селекция сперматоцитов I порядка имеет разные причины и на разных этапах профазы I мейоза осуществляется посредством разных механизмов. У носителей мутаций генов белков осевых элементов хромосом селекции подвергаются сперматоциты на стадиях лептотены-ранней зиготены. Позже, на стадии пахи-

тены жесткому отбору подвергаются сперматоциты с нарушениями гомологичного синапсиса аутосом. Как правило, это наблюдается у инфертильных пациентов с анеуплоидией или гетерозиготностью по хромосомным aberrациям. В этом случае селекция сперматоцитов I порядка осуществляется с помощью механизма пахитенного ареста. Характерными чертами пахитенного ареста являются реактивация хроматина половых (X, Y) хромосом; инактивация хроматина асиноптированных участков аутосом и нарушение процесса формирования полового тельца. Механизм пахитенного ареста включается не только у гетерозигот по хромосомным aberrациям, но и при частичном асинопсисе хромосом, например, при полиморфизме белка СК - SCP3. У мышей 0-мутантов по гену топоизомеразы II, блок десинапсиса гомологов и арест мейоза происходят на стадии диплотены. Случаи блока мейоза на стадии диплотены описаны и у пациентов с азооспермией. В перечисленных выше случаях сперматоциты I порядка выселяются из семенного эпителия и попадают в эякулят. Из таких клеток могут быть получены и исследованы тотальные препараты СК. Это позволяет установить стадию, на которой произошел блок мейоза, оценить особенности селекции сперматоцитов. Такой анализ проясняет перспективы лечения бесплодия и определяет направление поиска мутации в узком круге генов. После введения самцам мыши циклофосфида и фурацилина нами впервые описана множественная фрагментация хромосом в ядрах некротизирующихся сперматоцитов I на стадии лептотены-зиготены. Мы предполагаем, что выраженная фрагментация хромосом в профазе I мейоза является проявлением мейотической катастрофы. Считается, что митотическая катастрофа или апоптоз на стадии митоза, предотвращает анеуплоидизацию соматических клеток или дальнейшую малигнизацию опухолевых клеток при действии цитостатиков. Вполне вероятно, что мейотическая катастрофа осуществляет защиту клеток яичка от малигнизации. Следует подчеркнуть, что малигнизация клеток сперматогенного ряда приводит к развитию сперматоцитомы – единственной опухоли, развивающейся из половых клеток. Кроме того мейотическая катастрофа может снижать риск передачи потомкам сперматозоидов с множественными хромосомными транслокациями.

### C5-20. РАННИЕ ЭМБРИОНАЛЬНЫЕ ПОТЕРИ И ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ФОЛАТНОГО ЦИКЛА, ИНТЕГРИНОВ И ЦИТОКИНОВ

*Машикина Е.В.*\*, *Коваленко К.А.*, *Шкурат Т.П.*

*Южный федеральный университет (Ростов-на-Дону), Россия*

\*e-mail: lenmash@mail.ru

Одной из причин ранних эмбриональных потерь является нарушение инвазии трофобласта и плацентации. Процессы формирования сосудистой сети и становления маточно-плацентарного кровотока являются ключевыми событиями, необходимыми для обеспечения нормального функционирования плаценты. Факторы ангиогенеза начинают синтезироваться на ранних этапах роста плода еще до начала процессов образования новых сосудов, формирования плаценты и ремоделирования материнских артерий. Помимо регуляции ангиогенеза, большинство этих факторов контролирует процессы дифференцировки пролиферации клеток, что проявляется в их влиянии на процессы инвазии трофобласта. Нарушение процессов ангиогенеза, усиление процессов тромбообразования и, следовательно, некроза плаценты возможны при генетической предрасположенности к тромбообразованию. Нами был проведен сочетанный анализ носительства полиморфных вариантов генов, кодирующих белки фолатного цикла, факторы свертывающей системы крови и цитокины. Были исследованы полиморфизмы следующих генов: -31С-Т IL-

*IL-1β*, -174G-C *IL-6*, -592C-A, -819C-T *IL-10*, -308G-A *TNFα*, C677T *MTHFR*, A66G *MTRR*, A2756G *MTR*, T1565C *ITGB3*, C807T *ITGA2*, -455G-A *FGB*, -675 5G/4G *SERPINE1* у женщин с невынашиванием беременности первого триместра. Повышенный риск невынашивания беременности выявлен для женщин, имеющих в своем генотипе полиморфные варианты генов *MTRR*, *MTR* и *SERPINE1* (OR = 2,3 P = 0,013). Еще более значимым является одновременное носительство полиморфных вариантов генов *MTRR*, *MTR* и *ITGB3* (OR = 5,9). При этом возможны нарушения ранних этапов развития эмбриона из-за дисбаланса метильных групп, а также тромботические процессы в формирующейся системе новых кровеносных сосудов плаценты. Известно, что при повышении уровня гомоцистеина, в том числе обусловленного генетическими факторами возможна активация реакций воспалительного ответа. Риск невынашивания беременности в первом триместре возрастает у женщин, имеющих в своем генотипе полиморфные варианты генов фолатного цикла, *ITGA2* и провоспалительного цитокина *IL-1β* (OR = 2,29 P = 0,05). Еще более высокий риск характерен для лиц, у которых полиморфизм по генам *MTRR*, *MTR* сочетается с полиморфизмом по гену *SERPINE1* и *IL-1β* (OR = 3,47 P = 0,002). При таких вариантах генотипов возможны нарушения, приводящие к необратимым изменениям на ранних этапах развития эмбриона.

#### C5-21. АНАЛИЗ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ *PTPN22* C1858T И *XRCC1* G399A У ДЕТЕЙ С ЮВЕНИЛЬНЫМ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ В БЕЛАРУСИ

**Романиук О.П.**

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (Минск), Республика Беларусь*

e-mail: V.Ramaniuk@igc.bas-net.by

Ювенильный ревматоидный артрит (ЮРА) – полиэтиологическое системное заболевание соединительной ткани с преимущественным поражением суставов, имеет отчетливую тенденцию к развитию ранней инвалидизации, характеризуется вовлечением в процесс жизненно важных органов, что ставит его в разряд исключительно актуальных заболеваний детской ревматологии. Распространенность ЮРА колеблется от 0,1 до 0,8% в различных странах. Проблема ревматических заболеваний является актуальной и для Беларуси: на данный момент число детей и подростков с этими заболеваниями составляет 543 пациента, из них 194 ребенка – дети-инвалиды. Среди этиологических факторов важную роль играют генетические; имеются убедительные доказательства, что их вклад может составлять 50-60%. Ген *PTPN22*, кодирующий тирозиновую фосфатазу лимфоидных клеток, относится к числу наиболее значимых генов, участвующих в регуляции воспалительных реакций и иммунного ответа, поэтому активно изучается в связи с аутоиммунными заболеваниями. Система эксцизионной репарации ДНК играет важную роль в поддержании стабильности генома. Полиморфизм гена *XRCC1* в 399 кодоне затрагивает его центральный домен, необходимый для активации репарационного процесса, увеличивает чувствительность генома к ряду ДНК-повреждающих агентов, в том числе и к активным формам кислорода и азота, продукция которых увеличивается при ЮРА. Целью данной работы являлось изучение распределения полиморфных вариантов генов *PTPN22* C1858T и *XRCC1* G399A у пациентов с установленным диагнозом ЮРА (30 детей) по сравнению с контрольной группой (95 клинически здоровых детей). Объектом анализа служила ДНК, выделенная методом фенольно-хлороформной экстракции из периферической венозной крови. Средний возраст пациентов составил  $8,1 \pm 4,9$  лет, а средний возраст детей контрольной группы –  $14,0 \pm 2,8$ . Среди больных ЮРА преобладали девочки

(70%), в контрольной группе девочек было меньше (46%). Для типирования использовался метод ПЦР-ПДРФ анализа. В анализируемых выборках распределение частот генотипов исследуемых генов соответствовало равновесию Харди-Вайнберга. При анализе частоты встречаемости полиморфных вариантов гена *PTPN22* C1858T в группе детей с ЮРА и в контрольной группе не было выявлено статистически значимых различий ( $p > 0.05$  по критерию  $\chi^2$ ). При изучении распределения генотипов и аллелей гена *XRCC1* G399A было выявлено статистически значимое увеличение частоты встречаемости гетерозигот в контрольной группе (50,5%) по сравнению с больными ЮРА (23,3%). Исследования будут продолжены.

#### C5-22. СОЧЕТАНИЯ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ: АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ

**Эрдман В.В.\*, Насибуллин Т.Р., Туктарова И.А., Сомова Р.Ш., Мустафина О.Е.**

*ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН (Уфа), Россия*

\*e-mail: danivera@mail.ru

Изучение молекулярно-генетических основ старения и долголетия важно для развития фундаментальных концепций о причинах и механизмах старения, для разработки эффективных мер профилактики старения и возрастзависимых заболеваний, подходов адекватной “антивозрастной” терапии, а также системы предикторов потенциального возраста дожития. К генам-кандидатам, определяющим продолжительность жизни, относятся, в частности, гены цитокинов и JAK-STAT сигнального пути. Продукты этих генов участвуют в реализации воспалительного ответа, который является одним из универсальных механизмов патогенеза широко распространенных заболеваний, определяющих качество жизни и ограничивающих ее продолжительность. Цель исследования заключалась в изучении значимости определенных сочетаний полиморфных маркеров генов воспалительного ответа для достижения возраста старости и долголетия у человека. Материалом для исследования послужили образцы ДНК, полученные от 1722 неродственных между собой лиц (мужчин и женщин) в возрасте от 21 до 109 лет, принадлежащих к этнически однородной группе (татары, Республика Башкортостан). Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) и рестрикционного анализа (ПЦР-ПДРФ) были изучены полиморфные локусы генов *IL6* (rs1800796), *IL10* (rs1800872), *IL12B* (rs3212227), *TNFA* (rs1800629), *STAT1* (rs12693591), *STAT3* (rs8068748), *STAT5A* (rs9889323), *JAK1* (rs310216) и *JAK3* (rs3212780). С помощью метода Монте-Карло и цепей Маркова (программа APSampler) проведен анализ ассоциаций сочетаний изученных полиморфных маркеров с возрастом. Возраст рассматривался как ранговый фенотипический признак, при этом были выделены четыре, соответствующие общепринятой возрастной периодизации, группы: зрелая (22-60 лет для мужчин, 21-55 лет для женщин), пожилая (61-74 года для мужчин, 56-74 для женщин), старческая (75-89 лет для мужчин и женщин) и долгожители (от 90 лет и старше). Статистически достоверными считались сочетания при значении  $P < 0.01$ . В результате был получен ряд статистически значимых сочетаний, ассоциированных с возрастом. Наиболее информативными из них явились *IL6\*С+IL12\*С* ( $P=0,000096$  OR=0,45 CI 0,30–0,68), *IL6\*С+TNFA\*G* ( $P=0,0021$  OR=0,63 CI 0,47–0,86), *STAT3\*С/С+STAT5\*С* ( $P=0,0021$  OR=4,43 CI 1,53–12,79), *STAT3\*G+IL6\*G+IL10\*С* ( $P=0,0024$  OR=1,95 CI 1,25–3,03), *IL6\*С+IL10\*С/С* ( $P=0,0029$  OR=0,57 CI 0,39–0,84), *JAK1\*С+STAT3\*G+STAT5\*Т* ( $P=0,003$  OR=0,66 CI 0,50–0,88), *IL10\*С/С+TNFA\*G* ( $P=0,004$  OR=0,69 CI 0,53–0,90),



JAK1\*G+IL6\*G+IL10\*C (P=0,006 OR=1,70 CI 1,15–2,51). В целом полученные данные подтверждают гипотезу о значимости полиморфизмов генов воспалительного ответа для достижения преклонного возраста. Работа поддержана грантами РФНФ № 13-6-00633\_a и РФФИ № 14-04-01169\_a.

**C5-23. ПОЛИМОРФНЫЕ ЛОКУСЫ ГЕНОВ *AGT* И *AGT2R1*, АССОЦИИРОВАННЫЕ С КОРОНАРНЫМ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ В ЭТНИЧЕСКИХ ГРУППАХ РЕСПУБЛИКИ АДЫГЕЯ**

Шумилов Д.С. <sup>\*1</sup>, Тузуз А.Р. <sup>1</sup>, Ашканова Т.М. <sup>2</sup>, Смолюков И.В. <sup>1</sup>, Муженя Д.В. <sup>1</sup>, Анохина Е.Н. <sup>1</sup>, Руденко К.А. <sup>1</sup>, Татаркова Е.А. <sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Адыгейский государственный университет, НИИ комплексных проблем (Майкоп), Россия;

<sup>2</sup>ГБУЗ РА Адыгейская республиканская клиническая больница (Майкоп), Россия

\*lab\_genetic@mail.ru

Мультифакторные сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются основной причиной заболеваемости, инвалидизации и смертности населения индустриально развитых стран. Наиболее частой причиной ССЗ является атеросклероз. Данные многочисленных эпидемиологических, семейных, близнецовых, современных молекулярно-генетических методов исследований, полногеномного картирования человека свидетельствуют о большом вкладе наследственности в патогенез атеросклероза. Список возможных маркеров атеросклероза включает гены многих метаболических и физиологических систем и, в первую очередь, ген ангиотензиногена (*AGT*), ген сосудистого рецептора I типа ангиотензина-2 (*AGT2R1*), участвующие в регуляции артериального давления, водно-солевого обмена и других процессов организма. Физиологические функции продуктов генов *AGT* и *AGT2R1* обусловлены SNP (single nucleotide polymorphism) единичными нуклеотидными заменами или полиморфизмами, расположенными в промоторных или структурных регионах генов. Цель работы - исследование ассоциации полиморфных локусов *Met235Thr* гена *AGT* и *A1166C* гена *AGT2R1* с риском развития коронарного атеросклероза (КА) в этнических группах населения Республики Адыгея (РА). Материалы и методы: распределение *M235/235T* полиморфных локусов гена *AGT* и *A1166C* гена *AGT2R1* исследованы SNP-методом на тест-системах «SNP-экспресс» НПФ «Литех» с электрофоретической детекцией результатов. В исследование включено 325 жителей РА, 207 донора и 118 больных с ССЗ. При проведении попарного сравнения частот аллелей, между анализируемыми группами использовали критерий  $\chi^2$  с поправкой Йейтса, расчетом отношения шансов (odds-ratation или OR) и доверительного интервала (CI). Результаты исследований: по распределению генотипов и аллельных вариантов *M235/235T* гена *AGT* между донорами и больными ССЗ не установлено достоверных различий ( $p > 0,05$ ). Экспериментальные данные, полученные для жителей РА, отличаются от этнических групп китайцев и японцев, где данный полиморфизм является маркером ССЗ. Экспериментально установлено статистически значимое повышение частот «мутантного» *C1166C* генотипа (35,9%) и *1166C* аллеля (0,385) у больных с различными формами ССЗ, развившимися на фоне атеросклеротических поражений сосудов разных бассейнов в сравнении с донорами (0,194) ( $\chi^2=6,45$ ;  $p=0,04$ ;  $OR=2,88$  /  $\chi^2=$ ;  $p=0,01$ ;  $OR=3,5$ ). При этом наличие патологического гомозиготного *C1166C* генотипа повышает риск развития атеросклероза примерно в 3 раза, а наличие полиморфного варианта *1166C* - в 3,5 раз. Аналогичные результаты получены для жителей Южной Америки.

**\*C5-24. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВРОЖДЕННЫХ ИЗОЛИРОВАННЫХ ФОРМ КАТАРАКТЫ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН**  
Хидиятова И.И. <sup>\*1</sup>, Хидиятова И.М. <sup>1</sup>, Азнабаев М.Т. <sup>2</sup>, Хуснутдинова Э.К. <sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН (Уфа), Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет (Уфа), Россия

\*e-mail: imkhid@mail.ru

Катаракта – одно из наиболее частых заболеваний органа зрения, нередко приводящее к слепоте. Частота наследственных врожденных изолированных (несиндромальных) случаев катаракты составляет 1-6 случаев на 10000 детей (Francis et al., 2000). Наследственные несиндромальные катаракты (ННК) фенотипически и генетически гетерогенны. К наиболее частым причинам развития ННК относятся мутации в генах кристаллинов и коннексинов. Эпидемиологические и молекулярно-генетические исследования наследственных форм катаракты в Республике Башкортостан (РБ) ранее не проводились. С целью изучения молекулярно-генетических основ врожденных изолированных форм катаракты (ВИК), в 40 семьях с ВИК из Республики Башкортостан проведен анализ структурных особенностей генов альфа-кристаллина А (CRYAA), коннексина 46 (GJA3) и коннексина 50 (GJA8). Исследование проведено методом прямого секвенирования всех кодирующих последовательностей указанных генов. В гене CRYAA у трех неродственных больных с ВИК выявлены две новые, ранее не описанные мутации - с.253C>T (p.Leu85Phe) и с.291C>G (p.His97Gln); у одного больного идентифицирован известный полиморфный вариант с.190-15 (A>G) (rs61735855). Общий вклад мутаций гена CRYAA в развитие врожденной изолированной катаракты в исследуемом регионе составил 7,5%. В гене GJA8 у 4-х пациентов обнаружены три мутации: с.68G>T (p.Arg23Thr), 179G>A (p.Gly60Asp) и с.133-142delTGGGGGGATG (p.Trp45SerfsX72), две последние из которых ранее не описаны; а также два новых полиморфных варианта - с.288G>A (p.Ala96Ala) и -58G>T, функциональная роль которых пока не ясна, обнаруженных в гомозиготном состоянии у больных со спорадической и аутосомно-доминантной формой заболевания соответственно. Вклад наследственной изолированной катаракты, обусловленной мутациями в гене GJA8, в структуру врожденных изолированных катаракт в РБ составляет, приблизительно, 10%. В гене GJA3 у 2-х больных с ВИК из РБ обнаружены две новые мутации - с. G398A (p.Arg133Gln) и с.del1126\_1139, у одного пациента - полиморфный вариант с.C231T (p.Phe77Phe), также ранее не описанный в литературе. Вклад наследственной изолированной катаракты, обусловленной мутациями в гене GJA3, в структуру ВИК в РБ составил 5%. В целом, генетическая причина развития ВИК у больных из РБ установлена в 22,5% неродственных семей. Полученные данные внесут вклад в познание патогенеза заболевания, его географии, и послужат основой для разработки оптимальных для региона подходов ДНК-диагностики и эффективных методов генетического консультирования семей с наследственными формами врожденной катаракты.

**C5-25. ВЛИЯНИЕ МЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕНОМНОЙ ДНК НА ТЯЖЕСТЬ СПИНАЛЬНОЙ МЫШЕЧНОЙ АТРОФИИ**

Железнякова Г.Ю. <sup>1,2</sup>, Маретина М.А. <sup>2</sup>, Киселев А.В. <sup>\*1</sup>, Тищенко Л.И. <sup>2</sup>, Баранов В.С. <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта» СЗО

РАМН (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет

(Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: kisanet@hotmail.ru

Спинальная мышечная атрофия (СМА) - аутосомно-рецессивное нейродегенеративное заболевание, возникающее вследствие потери функции моторных нейронов передних рогов спинного мозга в результате мутаций гена *SMN1*. Ген *SMN1* дуплицирован, его копия - ген *SMN2* - функционально неполноценен вследствие сплайс-мутации. В зависимости от тяжести и времени начала заболевания различают 4 типа СМА. Способность гена *SMN2* производить небольшое количество полноразмерных транскриптов делает его основным геном-модификатором заболевания. Ранее было показано, что число копий гена *SMN2*, как правило, коррелирует с тяжестью СМА. Однако случаи семей, в которых сибсы имеют одинаковые мутации в гене *SMN1* и равное число копий гена *SMN2*, но разное течение заболевания, указывают на существование дополнительных факторов, влияющих на тяжесть развития СМА. Одним из таких факторов может быть метилирование геномной ДНК. В результате проведенного нами полногеномного анализа метилирования у больных со СМА выявлено 40 генов, у уровень метилирования которых по отдельным CpG сайтам достоверно отличался от такового в контрольной группе. Из 40 генов для дальнейшего анализа были выбраны те, для которых наиболее вероятно связь с патогенезом СМА. В работе анализируется уровень метилирования генов *SCL23A2*, *RPL9*, *CHML*, *ARHGAP22*, *CDK2AP1*, *NCOR2*, *DYNCH1*, *MAFK*, *FBXL7*, продукты которых участвуют в аксональном транспорте, аксоногенезе, ремоделировании хроматина и апоптозе. Их исследование проводилось на пациентах с различными типами СМА. методом бисульфитного секвенирования и анализа кривой плавления ДНК, обработанной бисульфитом натрия. У пациентов с разной тяжестью заболевания выявлены достоверные различия в уровне метилирования 5'-нетранслируемой области генов *SLC23A2* и *NCOR2* и в регуляторной области гена *CDK2AP1*, что позволяет их рассматривать в качестве генов-модификаторов клинического проявления СМА.

#### C5-26. ВОЗМОЖНОСТИ МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНСУЛЬТИРОВАНИЯ ПРИ ВРОЖДЕННЫХ ДИАФРАГМАЛЬНЫХ ГРЫЖАХ У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

*Зарецкая Н.В.\**, *Буров А.А.*, *Подуровская Ю.Л.*, *Андропова Н.В.*, *Баранова Е.Е.*, *Воеводин С.М.*, *Ляпин В.М.*  
ФГБУ Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова Минздрава РФ (Москва), Россия  
\*e-mail: n\_zaretskaya@opagina4.ru

Врожденные диафрагмальные грыжи (ВДГ) являются одной из наиболее часто встречающихся у новорожденных аномалий развития – в среднем 1/2000- 1/3000 родов. Данная патология характеризуется неоднозначным прогнозом и высокой летальностью. ВДГ является гетерогенной группой аномалий развития по своим анатомическим, морфологическим и генетическим характеристикам. При сочетании ВДГ с другими аномалиями развития патология чаще имеет установленную генетическую этиологию – хромосомную и моногенную. Среди моногенных форм множественных аномалий развития, включающих ВДГ, наиболее известны аутосомно-доминантные синдромы *Cornelii de Lange*, *Kabuki*, аутосомно-рецессивные синдром *Fryns*. Среди хромосомных синдромов ВДГ встречается при трисомии 13 (синдром Патау), трисомии 18

(синдром Эдвардса), делеции короткого плеча хромосомы 4 (синдром Вольфа-Хиршхорна), тетрасомии по короткому плечу хромосомы 12 (синдром Паллистера-Киллиана), а также при редких хромосомных aberrациях- *del 1q, 3q, 8p, 8q, 15q, dup 1q, 2p, 4q, 22q*. Имеется ряд X – сцепленных синдромов, включающих ВДГ. Установление диагноза генетического заболевания может позволить врачу-генетику определить тип его наследования, предложить сценарий репродуктивного поведения семье, корректную пренатальную диагностику. За период 2006–2011 гг. в нашем Центре была родоразрешена 71 беременная женщина с пренатально диагностированной ВДГ у плода. У 66 (94%) новорожденных в отделении поставлен диагноз левосторонняя ВДГ, у 4 (5%) – правосторонняя ВДГ и 1 (1%) – двусторонняя ВДГ. По типу преобладали ложные ВДГ – у 61 новорожденных (86%). Множественные пороки развития выявлены у 16 (30%) новорожденных, из них 15 умерло в дооперационном периоде. Послеоперационная смертность детей с изолированной ВДГ составила 7%. При медико-генетическом и патологоанатомическом исследовании у 16 детей с множественными аномалиями развития установлено наличие синдромальных форм – 2 случая синдрома *Fryns* (аутосомно-рецессивный синдром), синдром *Корнелии де Ланге* (1), хромосомная патология -1 (синдром Эдвардса), мультифакториальные множественные пороки (ВДГ с пороком сердца) – 9. До настоящего времени возможность провести исследование и подтвердить диагноз была только для заболеваний, выявляемых цитогенетически. С внедрением в нашем Центре с 2013г. метода сравнительной геномной гибридизации (CGH), позволяющем диагностировать микроделеционные и микродупликационные синдромы, а также методов полимеразной цепной реакции (ПЦР) и секвенирования, возможности медико-генетического консультирования, несомненно, значительно расширятся.

#### C5-27. ВЫБОР МЕТОДОЛОГИИ ДЛЯ КОМПЛЕКСНОГО МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ БОЛЬНЫХ ОСТЕОАРТРОЗОМ

*Иванов В.П.*, *Дубровин Г.М.*, *Лебедев А.Ю.*, *Трубникова Е.В.*, *Кирюхин Е.А.*

ГБОУ ВПО Курский государственный медицинский университет (Курск), Россия

\*e-mail: alexlebedev32@gmail.com

По данным Минздравсоцразвития РФ с 2000 по 2009 год число больных остеоартрозом увеличилось более чем в 2 раза, а его распространенность составляет (на 100 тыс. населения) – на 51,1%. Целью работы является исследование функциональной активности рибосомальных генов и ее модифицирующего влияния на развитие и течение первичного остеоартроза. Для проведения медико-генетического исследования нам понадобились комплексные системы оценки больных остеоартрозом. Анализ уже имеющихся стандартизированных анкет позволил выявить некоторые общие критерии оценки больных, на базе которых нами была разработана оригинальная методика опроса больных с учетом последующего цитогенетического анализа. Нами была разработана система комплексной оценки больных в условиях медико-генетического обследования. Комплекс состоит из 4 блоков: общеклинического, оценки факторов риска, детального исследования болевого синдрома (опросник WOMAC) и генеалогического. Общеклинический блок содержит: паспортную часть, данные о жалобах и длительности болезни, рентгенологической стадии заболевания, данных дополнительных инструментальных исследований, необходимых для установки точного диагноза. Второй блок позволяет

оценить наличие факторов риска развития остеоартроза: пол, возраст, вес, характер и величину физических нагрузок, характер трудовой деятельности, наличие предшествующих травм суставов. Блок оценки болевого синдрома (WOMAC) позволяет детализировать жалобы пациента, присвоить каждой графический код, для последующей статистической обработки данных. Генетический блок позволяет оценить распространение заболевания в поколениях, определить характер наследуемости. Данная комбинация позволит оценить наличие у пациента факторов риска развития остеоартроза, детально рассмотреть характер болевого синдрома, оценить характер наследуемости в поколениях. Комплексность подхода примененной методики, получение развернутых данных в процессе оценки состояния больных остеоартрозом, а также исследование функциональной активности рибосомальных генов, позволят приблизиться к пониманию причин развития первичного остеоартроза.

**\*С5-28. АНАЛИЗ ГЕНА *LEPRE1* У БОЛЬНЫХ НЕСОВЕРШЕННЫМ ОСТЕОГЕНЕЗОМ**

*Надыршина Д.Д.*<sup>\*1,2</sup>, *Хусаинова Р.И.*<sup>1</sup>, *Шаймурданова Д.Б.*<sup>2</sup>, *Хуснутдинова Э.К.*<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН (Уфа), Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет (Уфа), Россия

\*e-mail: dinanad@mail.ru

Несовершенный остеогенез (НО) – клинически и генетически гетерогенная наследственная болезнь соединительной ткани, характеризующаяся частыми переломами у больных детей с раннего детского возраста. Существуют аутосомно-доминантные и аутосомно-рецессивные формы заболевания, за развитие которых отвечают 13 генов, приводящие к различным клиническим характеристикам больных НО. Одним из таких генов является ген *LEPRE1* (prolyl-3-hydroxylase-1, Iergesap), содержащий 14 экзонов. Ген *LEPRE1* кодирует белок, который участвует вместе с хрящ-ассоциированным белком (CRTAP) и циклофилином В (PPIB) в посттрансляционной модификации коллагена-главного структурного белка кости. Целью исследования является поиск структурных изменений в гене *LEPRE1* у больных НО. Для определения изменений нуклеотидной последовательности были использованы методы: ПЦР- полимеразно-цепная реакция и анализ конформационного полиморфизма однонитовой ДНК- SSCP-анализ (SSCP - Single Strand Conformation Polymorphism). Определение последовательности нуклеотидов в образцах ДНК с обнаруженными различиями в электрофоретической подвижности при SSCP-анализе проводили с помощью автоматического секвенирования. Анализ гена *LEPRE1* позволил выявить изменения подвижности одноцепочечной ДНК у больных НО в двух экзонах, в остальных экзонах гена нарушений не обнаружено. В 13 и 14 экзонах гена *LEPRE1* обнаружены по 3 типа изменения подвижности однонитовой ДНК. Последующее секвенирование образцов ДНК позволило определить 3 различных полиморфных варианта: с.1839-30G>A (rs3738499) в интлоне 13, с.1915-20T>G (rs3738498) и с.1930C>A (rs3738497, p.Gln644Lys) в экзоне 14 гена *LEPRE1*. Эти полиморфные варианты выявлены и в контрольной группе здоровых детей. Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов выявленных полиморфных вариантов между больными НО и контролем не выявил статистически значимых различий, что предполагает нейтральный характер выявленных изменений. С помощью прямого секвенирования в экзоне 11 гена *LEPRE1* нами была определена ранее не описанная мутация сайта

сплайсинга с.1724+4G>A у больного татарского этнического происхождения с 8 типом НО. Для пациента характерны белые склеры, круглое лицо, бочкообразная грудная клетка и множественные переломы с раннего детства. Таким образом, нами обнаружена мутация сайта сплайсинга с.1724+4G>A в гене *LEPRE1* у больного с 8 типом несовершенного остеогенеза, а также три полиморфных варианта (rs3738499, rs3738498 и rs3738497), имеющих предположительно нейтральное функциональное значение для развития заболевания. Полученные результаты вносят вклад в исследование патогенеза несовершенного остеогенеза.

**С5-29. ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ, ВЛИЯЮЩИХ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТРОМБОЛИТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ И РАЗВИТИЕ ОСЛОЖНЕНИЙ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ**

*Бондаренко Е.А.*<sup>\*1</sup>, *Скворцова В.И.*<sup>2</sup>, *Лимборская С.А.*<sup>1</sup>, *Шамалов Н.А.*<sup>2</sup>, *Сломинский П.А.*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, (Москва), Россия

\*e-mail: el.bondarenko@gmail.com

Одним из подходов, который позволяет предотвратить или минимизировать объем и тяжесть поражения головного мозга при ишемическом инсульте, является высокоэффективный метод реперфузии вещества головного мозга в первые часы заболевания с помощью восстановления кровотока в окклюзированном сосуде. Тромболитическая терапия, проводимая при помощи рекомбинантного тканевого активатора плазминогена (rt-PA) или рекомбинантной проурокиназы, является наиболее эффективным методом лечения при ишемическом инсульте в первые 3 – 4,5 часа от начала развития симптоматики. Однако у части пациентов, получающих данный вид терапии, наблюдаются осложнения в виде симптомных внутримозговых кровоизлияний и/или тромболитическая неэффективна. Известные факторы, увеличивающие риск развития геморрагических трансформаций (возраст, высокое систолическое давление, гипергликемия и т.д.), не могут объяснить всех случаев недостаточной эффективности проводимой терапии и/или развития осложнений. Известно, что генетические факторы становятся причиной 20-95% всех неблагоприятных ответов (неэффективность и/или нежелательные лекарственные реакции) организма человека на лекарственные средства. Для выявления аллельных вариантов генов, которые могут быть ассоциированы с фармакологическим ответом на тромболитическую терапию, был проведен полногеномный анализ с использованием ДНК-микрочипов высокой плотности HumanCyto12 v.2 (Illumina, США) выборки больных ишемическим инсультом (N=50), получающих тромболитическую терапию, с разным индивидуальным ответом. Для дальнейшего анализа из полученного массива данных были выбраны однонуклеотидные полиморфизмы в генах, белковые продукты которых участвуют в системе гемостаза и могут влиять на индивидуальный ответ от введения тромболитических препаратов: *F5* (rs12131397, rs6427202, rs6025), *SERPINE1* (rs2227684, rs34857375), *ITGA2* (rs1645761, rs3212430, rs2303122), *ITGB3* (rs4525555, rs10514919, rs7209700, rs3809863), *F2* (rs1799963), *GP1BA* (rs2243093). Была показана ассоциация А-аллеля однонуклеотидного полиморфизма rs2303122 гена *ITGA2* с развитием осложнений в виде геморрагических трансформаций у пациентов, получающих тромболитическую терапию препа-



ратами *gt-PA* и рекомбинантной проурокиназой ( $p=0,03$ , 95% CI: 1,1 - 7,3). У носителей аллеля А частота развития внутричерепных кровоизлияний была выше, а также более выражена степень неврологического дефицита (по шкале NIH).

### C5-30. АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ ИММУННОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ ОПИСТОРХОЗОМ

*Салтыкова И.В.*\*, *Ильинских Е.Н.*, *Сазонов А.Э.*

ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России (Томск), Россия

\*e-mail: ira.saltikova@mail.ru

Описторхоз, вызываемый *Opistorchis felineus*, является заболеванием с упорным, рецидивирующим течением. Гельминтозы, обусловленные описторхидами, поражают главным образом печень и желчные протоки, кроме того индуцируют онкологические и метаболические заболевания, дисфункции эндокринной и иммунной систем, и вызывают, таким образом, большое количество системных патологий в организме человека (Кудашева, 2001). Есть данные, что выраженность клинических проявлений описторхоза сильно варьирует от индивида к индивиду. Для представителей коренного населения очага заболевания зачастую гельминтоз характеризуется бессимптомным, вялым течением, тогда как у приезжих описторхоз может начинаться остро и сопровождаться выраженными клиническими симптомами (Ильинских 2002). Межпопуляционные различия формирования тяжести течения заболевания указывают на наличие генетической компоненты, детерминирующей индивидуальные особенности развития описторхоза. В отношении генетического вклада в формирование клинических признаков описторхоза практически ничего не известно и исследование генетической предрасположенности описторхозу является важной и актуальной научной задачей. Предполагается, что выраженность функциональных изменений печени при описторхозе взаимосвязана с интенсивностью инвазии, которую принято ассоциировать с количеством яиц, продуцируемых гельминтом. Цель исследования: анализ вклада полиморфизма генов иммунного ответа в риск развития описторхоза и интенсивность инвазии *O.felineus*. Методы: В исследование были включены больные описторхозом ( $n=186$ ) и здоровые индивиды ( $n=102$ ), диагноз описторхоз устанавливали на основании результатов дуоденального зондирования или копроовоскопического исследования. У 86 индивидов, инвазированных *O. felineus*, определяли количество яиц в грамме кала методом Като-Катц. Выделяли группу с низкой и высокой интенсивностью инвазии на основании количества яиц на грамм кала (менее 500 яиц в грамме кала и более 500 яиц в грамме кала соответственно). Проводили анализ полиморфизма генов *IFNG* rs2069705, *IFNGR2* rs17880053, *PIAS3* rs12756687 в анализируемых группах. Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга с помощью точного теста Фишера. Значимость межгрупповых различий частот генотипов оценивалась с помощью точного теста Фишера. При сравнении групп больных описторхозом и здоровых индивидов не получено значимых различий по частотам генотипов исследованных полиморфных маркеров, также не обнаружено статистически значимых различий в распределении генотипов при сравнении групп больных описторхозом с высоким и низким уровнем инвазии что может свидетельствовать о низком вкладе исследованных генетических маркеров в риск развития описторхоза и интенсивность инвазии *O. felineus*. В связи с тем, что интенсивность инвазии является косвен-

ным показателем тяжести течения описторхоза, для оценки генетического вклада в выраженность патологических изменений, ассоциированных с описторхозной инвазией перспективным выглядит выбор информативного и объективного показателя, характеризующего тяжесть течения данного гельминтоза.

### \*C5-31. АНАЛИЗ АССОЦИИИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ РЯДА ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ У ПАЦИЕНТОВ С ИНФЕКЦИЕЙ *H. PYLORI* В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

*Нургалеева А.Х.*\*<sup>1</sup>, *Шаймарданова Э.Х.*<sup>1</sup>, *Габбасова Л.В.*<sup>3</sup>, *Курамышина О.А.*<sup>3</sup>, *Крюкова А.Я.*<sup>3</sup>, *Хидиятова И.М.*<sup>1,2</sup>, *Хуснутдинова Э.К.*<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Башкирский государственный университет (Уфа), Россия;

<sup>2</sup>Институт биохимии и генетики УНЦ РАН (Уфа), Россия;

<sup>3</sup>Башкирский государственный медицинский университет (Уфа), Россия

\*e-mail: alfiyakh83@gmail.com

Язвенная болезнь (ЯБ) представляет собой хроническое, рецидивирующее заболевание, протекающее с чередованием периодов обострения и ремиссии, основным признаком которого является образование дефекта (язвы) в стенке желудка и (или) двенадцатиперстной кишки, проникающего в подслизистый слой. Этой патологией страдают около 10% всего населения земного шара. Наиболее вероятной причиной возникновения ЯБ считают инфицирование бактерией *Helicobacter pylori*, которому подвержены более 50% населения в разных странах, однако лишь у 10-15% из них развивается ЯБ. Бесспорно, что ulcerогенность *H. pylori* зависит от большого количества эндогенных и экзогенных факторов риска, данная инфекция сопровождается повышением секреции на слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки некоторых цитокинов, определяющих активацию и подавление иммунного ответа в отношении инфекционных агентов. Полиморфные варианты генов, кодирующих белки-иммуномедиаторы, могут определять вариабельность их структуры и экспрессии и, как следствие, реактивность иммунного ответа в отношении инфекционных агентов. Целью данной работы явилось изучение ассоциации полиморфных вариантов генов цитокинов: интерлейкина-1 $\beta$  IL1B (rs1143634), рецепторного антагониста интерлейкина-1 IL1RA (rs71941886), интерлейкина-8 IL8 (rs4073), интерлейкина-10 IL10 (rs1800872) и фактора некроза опухоли- $\alpha$  TNFA (rs1800629) с ЯБ у пациентов, инфицированных *H. Pylori*, в Республике Башкортостан (РБ). Материалом для исследования послужили образцы ДНК 264 пациентов с язвенной болезнью, 114 из которых были заражены *H. Pylori*, и 282 здоровых индивидов без признаков патологии ЖКТ. ДНК была выделена из лейкоцитов периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование проводилось с помощью метода ПЦР-ПДРФ. В результате проведенного анализа обнаружено, что в группе больных, инфицированных *H. Pylori*, достоверно чаще по сравнению с выборкой здоровых доноров (в 60,0% и 49,0% случаев, соответственно) встречается генотип С/С полиморфного варианта rs1143634 (3953С>Т) гена IL1B (OR=1,56; P=0,05;  $\chi^2=3,74$ ). Генотип А/А полиморфного варианта rs4073 (-251Т>А) гена IL8, встречающийся в 10,0% случаев у больных с *H. Pylori* и 19,4% - в контроле, является маркером пониженного риска развития ЯБ (OR=0,46; P=0,02;  $\chi^2=5,29$ ). Таким образом, показано, что полиморфные варианты rs1143634 гена IL1B и rs4073 гена IL8 могут вносить вклад в развитие предрасположенности к ЯБ.

**\*C5-32. АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ RS3918242 И RS17576 ГЕНА MMP9 С ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЖЕЛУДКА И ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН**

**Шаймарданова Э.Х.**\*, <sup>1</sup>**Нуралиева А.Х.**<sup>1</sup>, **Валова Я.В.**<sup>1</sup>, **Гизатуллина А.А.**<sup>1</sup>, **Габбасова Л.В.**<sup>2</sup>, **Курамышина О.А.**<sup>2</sup>, **Крюкова А.Я.**<sup>2</sup>, **Хидиятова И.М.**<sup>3</sup>, **Хуснутдинова Э.К.**<sup>1,3</sup>  
<sup>1</sup>Башкирский государственный университет (Уфа), Россия;  
<sup>2</sup>Башкирский государственный медицинский университет (Уфа), Россия;  
<sup>3</sup>ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН (Уфа), Россия  
 \*e-mail: elza817@mail.ru

Язвенная болезнь (ЯБ) — хроническое заболевание с рецидивирующим течением и развитием осложнений, протекающее с чередованием периодов обострения и ремиссии, основным признаком которого служит образование язвы в стенке слизистой оболочки желудка (ЯБЖ) и/или двенадцатиперстной кишки (ЯБДПК). ЯБ страдает около 10% трудоспособного населения, что делает это заболевание социально значимым. Эта патология является результатом действия множества взаимопотенцирующих этиологических факторов: воздействие окружающей среды, инфицирование *Helicobacter pylori*, пол, наследственная предрасположенность. Известно, что у ближайших родственников больных риск возникновения ЯБ в 10 раз выше, чем у людей не имеющих наследственную отягощенность. Ряд исследований обнаружили, что процесс образования язв желудка и двенадцатиперстной кишки регулируются многими металлопротеиназами (MMP), и полиморфные варианты кодирующих их генов могут повлиять на предрасположенность к формированию данного заболевания. В частности, MMP-9 играет важную роль в начальной стадии развития ЯБ, так как ее основной функцией является деградация компонентов внеклеточного матрикса, обладающих такой физиологической функцией, как заживление ран. Целью данного исследования являлось проведение ассоциативного анализа полиморфных вариантов -1562C>T (rs3918242) и 836A>G (rs17576) гена MMP9 с язвенной болезнью в Республике Башкортостан. Были изучены 260 больных (ЯБЖ, n=35; ЯБДПК, n=225) различного этнического происхождения (русские, татары, башкиры). Контрольную группу составили 272 практически здоровых индивидов без признаков патологии ЖКТ. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической венозной крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование проводили с помощью полимеразной цепной реакции со специфичными праймерами и последующей рестрикцией. Распределение частот аллелей и генотипов изученных полиморфных локусов сильно не различались в обеих группах. Наиболее распространенный генотип rs3918242\*С/С гена MMP9 встречался в группах больных и контроля с частотой 81% и 76%, соответственно. Генотип rs17576\*A/A гена MMP9 чаще встречался у здоровых индивидов (41% - у пациентов, 50% - в контрольной группе), однако, различия не достигли уровня статистической значимости. Таким образом, в результате проведенного исследования не были выявлены ассоциации полиморфных вариантов rs3918242 и rs17576 гена MMP9 с ЯБ в Республике Башкортостан.

**C5-33. КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ ПЦР В ИНВАЗИВНОЙ ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ НАРУШЕНИЙ ЧИСЛА ПОЛОВЫХ ХРОМОСОМ**

**Кривеницова Н.В.**\*, **Шокарев Р.А.**, **Авруцкая В.В.**, **Кригер С.Ю.**, **Горская Н.Е.**, **Гимбут В.С.**  
 ФГБУ Ростовский НИИ акушерства и педиатрии

(Ростов-на-Дону), Россия  
 \*e-mail: r715@yandex.ru

Проведена оценка применения количественной флуоресцентной полимеразной цепной реакции (КФ-ПЦР) для пренатальной диагностики нарушений числа половых хромосом, у пациентов Ростовской области. Нами были обследованы 99 образцов амниотической жидкости полученных в результате инвазивных пренатальных диагностик, выполненных в Ростовском НИИ акушерства и педиатрии в 2012-13 гг. Во всех случаях параллельно с КФ-ПЦР было проведено кариотипирование. Для постановки мультилокусной ПЦР были выбраны флуоресцентно меченные праймеры на 4 STR маркера на X хромосому и одна пара праймеров на локус X22, присутствующий и на X и на Y хромосомах. Для идентификации генетического пола были использованы локусы: *SRY*, *AmelgXY* и *DYS448*. Электрофоретическое разделение ПЦР-продуктов проводили с помощью капиллярного ДНК-анализатора ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems). Фрагментный анализ осуществляли с помощью программы «GeneMapper» v4.0. В 3 образцах, при наличии участков, определяющих мужской пол, было обнаружено наличие двойной дозы аллелей X-хромосомы. Кариотипирование подтвердило в этих случаях наличие у плода двух X-хромосом, диагноз синдром Клайнфельтера установлен (47, XXY). В двух образцах женского пола методом КФ-ПЦР была обнаружена моносомия по X-хромосоме. Диагноз синдром Тернера был подтвержден цитогенетически (45, X0). Одним из этапов внедрения КФ-ПЦР в практику пренатальной диагностики является выбор наиболее информативных хромосом специфичных STR маркеров. Гетерозиготность маркеров X хромосомы для русских Ростовской области следующая: *DXS981* - 0,66; *DXS1187* - 0,74; *XHPRT* - 0,69; *P39* - 0,84. В нашем исследовании не было получено ложноположительных или ложноотрицательных результатов. Таким образом, нами создана информативная для населения Ростовской области система специфичных для X хромосомы STR маркеров, которая совместно с определением генетического пола плода с помощью мультиплексной КФ-ПЦР может выявлять синдромы Клайнфельтера и Тернера. Использование данных маркеров позволяет расширить возможность пренатальной диагностики и увеличить количество диагностируемых заболеваний (в дополнение к ранее внедренной методике определения синдромов Дауна, Эдвардса и Патау методом КФ-ПЦР) в группах беременных высокого риска по маркерам хромосомной патологии.

**C5-34. МЕТОД QF-PCR В ПРЕНАТАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ХРОМОСОМНЫХ БОЛЕЗНЕЙ (ИТОГИ 5 ЛЕТ ПРАКТИКИ)**

**Тарасенко О.А.**\*, **Насыхова Ю.А.**, **Иващенко Т.Э.**  
 ФГБУ НИИАГ им. Д.О. Отта СЗО РАМН  
 (Санкт-Петербург), Россия  
 \*e-mail: olgatar777@mail.ru

Методом количественной флуоресцентной ПЦР для исключения числовых нарушений по хромосомам 13, 21, 18, X и Y у плода в период 2009-2013гг. нами проанализировано 1585 образцов амниотической жидкости, полученных в результате инвазивных процедур, выполненных в НИИАГ им. Д.О. Отта. В результате проведенного анализа в 69 случаях выявлены анеуплоидии по хромосом (13, 21, 18, X), что составило 4,35%. В 20 (1,37%) образцах выявлены субмикроскопические дубликации полиморфных STR маркеров. Из них 7(0,48%) по маркеру D13S634; 2(0,14%) по маркеру D13S742; 1(0,07%) по маркеру D18S391; 1(0,07%) по маркеру D18S535; 4(0,27%) по маркеру D21S1437; 1(0,07%) по маркеру P39 (Xq28); и 4(0,27%) по мар-

керу Х22. Согласно литературным данным в европейской популяции частота встречаемости субмикроскопических дупликаций составляет менее 0,1%, что достоверно ниже, чем в популяции Северо-Западного региона России. Все образцы были разделены на две группы. Первая группа – ДНК, выделенная из клеток амниотической жидкости пациенток, направленных на диагностический амниоцентез 1463 (92,3%). Основанием для ПД служил повышенный риск по биохимическим маркерам I и II триместров, возраст 35 лет и более, а так же озбоченность состоянием плода. Во вторую группу – 122 (7,7%) вошли образцы ДНК, выделенные из амниоцитов пациенток, которым проводили диагностический кордоцентез (риск рождения ребенка с хромосомными патологиями по ультразвуковым маркерам). Процент патологий у плодов второй группы (диагностический кордоцентез) был достоверно выше, чем в группе с отклонениями биохимических маркеров I и/или II триместров (диагностический амниоцентез) (15,57% и 3,35% соответственно,  $p < 0,0001$ ).

#### **C5-35. ПРИМЕНЕНИЕ СЕРВИСА XGENCLOUD ПРИ ИЗУЧЕНИИ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ В ПОДГОТОВКЕ ВРАЧА**

**Угаров И.В.**<sup>\*1</sup>, **Тактаров В.Г.**<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ООО «эксДжен Сайбернетикс» (Москва), Россия

<sup>2</sup>Кафедра морфологии и патологии ММИ «Реавиз» (Москва), Россия

\*e-mail: iugarov@yandex.ru

В настоящее время наибольшее внимание уделяется проблеме разработки и применения информационных медицинских систем, их интеграции в единое информационное пространство. По области применения системы поддержки принятия решений (СППР) создаются для клинической практики, где их часто называют консультирующими (ассистирующими), для обучения и повышения квалификации (тестирующие), в научных целях для анализа и оценки информации научных исследований. В то же время, в системе высшего дипломированного образования отсутствуют курсы по предиктивной медицине. Поэтому разработка СППР должна обязательно включать в себя обучающий модуль, позволяющий постоянно пополнять ее новыми данными, расширять технологические возможности для обучения и формирования у пользователей навыков в области генетики предрасположенности. На кафедре медицинской генетики МГМСУ им. Евдокимова (зав. кафедрой – профессор, д.м.н. Акуленко Л.В.) и кафедре морфологии и патологии Московского медицинского института «Реавиз» (зав. кафедрой – профессор, д.м.н. Тактаров В.Г.) накоплен значительный опыт использования СППР при изучении курса медицинской генетики студентами лечебного и стоматологического факультетов. Для этого также используется информационно-поисковая диагностическая программа xGenCloud. Опыт применения указанной программы в учебном процессе показал, что она позволяет ускорить процесс формирования у студентов знаний по диагностике и прогнозированию мультифакториальных заболеваний, навыков описания клинической картины функционального состояния пациента, фенотипических признаков наследственных заболеваний. Использование СППР позволило систематизировать знания студентов по генетике предрасположенности к мультифакториальным заболеваниям, оптимизировать процесс формирования клинического мышления в процессе формирования навыков дифференциальной диагностики и прогнозирования данной группы заболеваний, существенно упростить доступ к необходимой для этого информации. Разработанная нами система обеспечивает поддержку принятия решения в области генетики предрасположенности в виде онлайн-сервиса,

упрощает процесс назначения обследуемому генетических тестов. Автоматическая интерпретация результатов генетических анализов повышает качество оказываемых услуг в области персонифицированной медицины, а также обучения студентов-медиков. Результаты проверки знаний, полученных студентами на кафедре медицинской генетики и морфологии и патологии, показали, что применение СППР повышает эффективность преподавания медицинской генетики: обеспечивает достаточную глубину и качество теоретических знаний у будущих врачей, облегчает усвоение навыков диагностики риска возникновения наследственных заболеваний.

#### **C5-36. ОПТИМИЗАЦИЯ ОЦЕНКИ РЕЗУЛЬТАТОВ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОГО ТЕСТИРОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ ЭКСПЕРТНОЙ СИСТЕМОЙ XGENCLOUD ПРИ НЕКОТОРЫХ ВИДАХ ЗАВИСИМОГО ПОВЕДЕНИЯ**

**Тактаров В.Г.**<sup>\*1</sup>, **Угаров И.В.**<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Кафедра морфологии и патологии ММИ «Реавиз» (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ООО «эксДжен Сайбернетикс» (Москва), Россия

\*e-mail: taktdoc@mail.ru

Предиктивная медицина как теоретическая область знаний стремительно развивается, в то же время, большинству врачей-специалистов недоступна информация о генетике мультифакториальных заболеваний. Врачи психиатры-наркологи не являются здесь исключением. Кроме того, постоянно увеличивается объем информации по генным сетям, межгеному взаимодействию и клинико-генетической гетерогенности, что требует и от врачей-генетиков постоянно обновлять и совершенствовать свои знания по многофакторным заболеваниям. Один из путей решения проблемы – создание специализированных экспертных систем. Разработанный нами сервис xGenCloud позволяет автоматически интерпретировать результаты генетических тестов, что повышает эффективность взаимодействия врачей – специалистов различных профессиональных групп. Цель исследования – разработать алгоритм интерпретации результатов лабораторного тестирования и психологического тестирования для оценки предрасположенности к различным видам химической зависимости экспертной системой xGenCloud. Для наполнения базы знаний по многофакторным заболеваниям использовались специализированные в данной области публичные ресурсы сети ИНТЕР-НЕТ. Для реализации прогностической функции экспертной системы использовался комплекс математических методов: нейронные сети, продукционные правила и фреймы. Сервис был разработан на основе платформы xGen IDS. Молекулярно-лабораторные исследования по полиморфизму кандидатных генов, участвующих в обмене дофамина и серотонина назначались на основе клинико-психологического тестирования. Экспертная система в виде онлайн-сервиса включает функции: назначения молекулярно-генетических анализов для выявления полиморфизма генов, вовлеченных в обмен катехоламинов, с учетом результатов психологического тестирования, межгенового взаимодействия, фенотипа пациента, экзогенных факторов и семейного анамнеза. Имеется модуль рекомендаций для дополнительных исследований; автоматический генератор текста заключения по результатам генетического тестирования такого многофакторного заболевания, как алкогольная и наркотическая зависимость. Дифференциально-диагностический модуль использует оригинальные алгоритмы, учитывающие данные по семейному анамнезу, ассоциациям, эмпирическим рискам заболевания в зависимости от среды. База знаний включает каталоги фенотипических при-



знаков в виде иерархического древа, сопутствующих заболеваний, средовых факторов, фармакологических препаратов и генных сетей. Структура заключения включает два варианта: упрощенный и расширенный, включая научный отчет с информацией о полиморфизмах, выявленных у пациента. Разработанная система позволяет автоматически интерпретировать результаты генетических анализов, содержит информацию о более чем 12 000 генах, дает возможность ускорить процесс развития услуг в области персонализированной медицины для пациентов наркологической клиники. Система, несомненно, требует дальнейшего совершенствования при непосредственном участии врачей-генетиков.

### C5-37. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ, УЧАСТВУЮЩИЕ В МЕТАСТАЗИРОВАНИИ РАКОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

**Баженова О.В.**

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

\*e-mail: obajen@gmail.com

Измерение уровня опухолевых маркеров широко используется в диагностике, лечении и при наблюдении за состоянием онкологических больных. Повышенное количество раково-эмбрионального антигена (РЭА) (синоним-карциноэмбриональный антиген (СЕА)) в сыворотке крови пациентов после хирургического удаления первичной опухоли в мировой практике используется как онкомаркер наличия метастазов. Выработка СЕА/РЭА характерна для раковых клеток различного происхождения и наблюдается у 9-15 % тестикулярных раков, рака яичников, панкреатической и щитовидной желез, и у 50-90% метастазирующих раков кишечника и груди. Имеется большое количество данных о молекулярных механизмах составляющих процесса образования метастазов, однако они в значительной степени противоречивы. В этой связи особенно актуальным представляется использование биологических моделей, позволяющих изучать метастазирование как комплексный физиологический феномен с использованием генетически родственных клеточных линий с различным метастатическим потенциалом. Одной из таких моделей является коллекция клеточных линий рака прямой кишки на основе низко дифференцированной, слабо метастатичной клеточной линии рака прямой кишки МР101 не вырабатывающей СЕА. Нашей группой впервые было показано, что в процессе метаболизма СЕА накапливается в легких и печени мышей, взаимодействуя с их макрофагами. Мы клонировали ген СЕА связывающего белка (*cear*) и показали, что взаимодействие белков СЕА/СЕАР способствует приживаемости метастазирующих раковых клеток в печени. Был разработан метод снижения экспрессии *cear* с помощью интерферирующих РНК и отселектированы 20 клеточных линий, с различным уровнем экспрессии *cea* и *cear*, которые были использованы для изучения роли СЕАР в процессе метастазирования. Результаты исследований методом ПЦР свидетельствуют о том, что подавление экспрессии *cear* коррелирует со снижением уровня поверхностных белков эпителиальных клеток: Е-кадгерина, снайл, металлопротеиназы-2 и интегрина альфа-3, являющихся регуляторами межклеточных контактов и архитектуры эпителиальной ткани. Показано, что подавление экспрессии *cear* влияет на инвазивность клеток, а следовательно, их способность к развитию метастазов. Проведен сравнительный анализ опухолеобразующей активности штаммов с различным уровнем СЕА и СЕАР на иммунодефицитных мышках линии Nude. В результате проведенных преclinical испытаний выявлена стимулирующая роль СЕАР в процессе

образования опухолей у мышей. Развитие данного направления способствует отбору новых таргетных молекул и разработке более эффективных методов диагностики и предотвращения развития СЕА-зависимых метастазов. Исследования проводятся при финансовой поддержке РФФИ грант № 11-04-01711 О.Баженовой.

### C5-38. АНАЛИЗ ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК И ХРОСОМ ГИБРИДНЫМИ МЕТОДАМИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЦИТОГЕНЕТИКИ

**Арутюнян Р.М.** <sup>\*1</sup>, **Лир Т.** <sup>2</sup>, **Оганесян Г.Г.** <sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Ереванский государственный университет (Ереван), Армения;*

<sup>2</sup>*Институт генетики человека (Иена), Германия*

\*e-mail: genetik@ysu.am

Потенциал изучения мутационного процесса и его модификации значительно расширился благодаря комбинированным молекулярно-генетическим технологиям, основанным на сочетании флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH), позволяющей определять конкретные последовательности ДНК на хромосомных препаратах, с методами ДНК-комет и микроядер (МЯ), которые применяются для тестирования генотоксикантов. Нами разработаны комплексные подходы с применением центромерных, цельнохромосомных и локус-специфичных проб для локализации повреждений в геноме на препаратах комет и микроядер. Предложен подход, основанный на сочетании метода ДНК-комет с техникой FISH, для оценки действия противоопухолевых препаратов и их комбинаций в теломерах клеток млекопитающих. Локализованы мишени действия широко применяемых противоопухолевых препаратов митомицина-С (ММС), блеомицина и цисплатина на ДНК клеток человека. Метод ДНК-комет с применением теломерных проб пептидо-нуклеиновой кислоты позволил идентифицировать мутагены, избирательно повреждающие теломерные участки хромосом при оценке специфики действия мутагенов. Показано, что различия в уровнях повреждений теломер и в распределении теломерных сигналов в голове и хвосте комет отражают разные молекулярные механизмы действия мутагенов на ДНК. Выявлены различия в чувствительности разных клеточных линий к мутагенам и по характеру распределений повреждений по геному. Результаты анализа повреждений ДНК и теломер при действии цитостатиков на опухолевые клетки подтверждают информативность предложенного подхода для оценки чувствительности трансформированных клеток к лекарственным препаратам. Последовательная гибридизация препаратов МЯ с центромерными и цельнохромосомными ДНК-зондами позволила отличать МЯ с центромерными сигналами (включающие целые хромосомы), и МЯ без центромерных сигналов (включающие фрагменты хромосом) и, таким образом, дифференцировать кластогенные и анеугенные эффекты. Предложена и проверена гипотеза о возможной зависимости включения хромосом в микроядра от их позиции в интерфазном ядре. На девяти хромосомах человека показано, что вероятность их включения в индуцированные ММС микроядра не зависит от их локализации в интерфазном ядре. Не обнаружено также зависимости включения хромосом в микроядра от их размера и плотности генов. Показано, что неслучайное распределение ММС-индуцированных повреждений определяется, главным образом, спецификой действия ММС на определенные участки хромосом человека. Разработанные молекулярно-цитогенетические комплексы могут рассматриваться как чувствительные тест-системы регистрации мутагенных воздействий для их внедрения в практику генетико-токсикологических исследований.

### C5-39. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ОКСИДА АЗОТА НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ МОДЕЛЬНОГО ОБЪЕКТА *DROSOPHILA MELANOGASTER*

*Мить Н.В.*\*, *Амиргалиева А.С.*, *Толбаева А.Д.*, *Бегманова М.О.*, *Джансугурова Л.Б.*

*Институт общей генетики и цитологии КН МОН РК (Алматы), Казахстан*

\*e-mail: nata-mit@yandex.ru

В последние годы все более актуальными становятся проблемы биологии продолжительности жизни (ПЖ), старения и долголетия. Поскольку генетический контроль ПЖ высоко консервативен, экспериментальные исследования часто проводятся на модельных объектах. Весьма перспективными представляются модельные эксперименты с использованием плодовой мушки *Drosophila melanogaster*, большинство генов которой имеет ортологи у других высших эукариот, в том числе у человека. В данной работе проведен анализ динамики ПЖ дрозофилы в норме и под действием оксида азота (NO) как фактора оксидативного стресса. Для изучения влияния оксида азота виргинных мух линии дикого типа Oregon R помещали на питательную среду, содержащую вещества-доноры NO или ингибиторы синтазы оксида азота (NOS). В качестве донора эндогенного NO использовали липополисахариды (LPS), в качестве ингибиторов NOS использовали S-Methyl-L-thiocitrulline (Ltc) и N $\omega$ -nitro-L-arginine (L-NAME). В контроле использовали корм без добавок. Самок содержали отдельно от самцов. Ежедневно производили подсчет умерших особей. Выживших мух переносили на свежую питательную среду каждые 5-7 дней. Выявлено, что ПЖ у самок дрозофилы достоверно выше, чем у самцов во всех сериях экспериментов ( $p < 0,1$ ). Выживаемость самок и самцов была одинаковой в первый месяц жизни, во второй месяц смертность среди самцов была гораздо выше, чем среди самок во всех сериях экспериментов. Максимальная продолжительность жизни (ПЖ) в контроле составила 94 суток, в группе LPS – 89 суток, Ltc – 84 суток, L-NAME – 93 суток. Для 10% самых долгоживущих особей группы средняя ПЖ в контроле – 78 суток, в группе LPS – 75 суток, Ltc – 70 суток, L-NAME – 76 суток. Средняя ПЖ для всей выборки в контроле составила 54 суток, при воздействии LPS и Ltc – 52 суток, при воздействии L-NAME – 57 суток. Показатели средней ПЖ под влиянием доноров NO и ингибиторов NOS достоверно не отличаются от контрольных, однако разница между показателями средней ПЖ в группах L-NAME и LPS, а также L-NAME и Ltc статистически достоверна ( $p < 0,1$ ). Предположительно, эти различия связаны механизмами влияния изучаемых веществ на индуцибельную изоформу NOS. В дальнейших экспериментах планируется исследовать роль эндогенного оксида азота в ПЖ *Drosophila melanogaster* с использованием трансгенных линий, содержащих дополнительные копии NOS-гена.

### C5-40. НАСЛЕДУЕМОСТЬ ПАРАМЕТРОВ КРИВЫХ ВЫЖИВАНИЯ *DROSOPHILA MELANOGASTER* И КЛАССИФИКАЦИЯ ГЕРОПРОТЕКТОРОВ

*Мыльников С.В.*\*<sup>1</sup>, *Опарина Т.И.*<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия;*

<sup>2</sup>*НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта (Санкт-Петербург), Россия*

\*e-mail: sorex.araneus@gmail.com

В традиционно применяемой для анализа кривых выживания (КВ) модели Гомперца выживаемость характеризуют с помощью двух параметров, связанных между собой корреляцией Стреллера-Миллвана. Мы предлагаем новый подход к анализу

КВ - логистическую модель смертности (ЛГМС). В регрессионном анализе аналитически описано уравнение кривой, начинающейся от 100% и плавно снижающейся до нуля, то есть именно так, как выглядит КВ. Параметрами этой модели являются медиана кривой (MeПЖ) и ее наклон (НКВ). Эти параметры оценивают методом наименьших квадратов, соответственно они являются стандартными коэффициентами регрессии, и их можно сравнивать с помощью F - критерия Фишера. Поскольку данная кривая при увеличении возраста когорты асимптотически стремится к нулю, мы предлагаем также определять точку на оси X, которой соответствует значение функции (доля живых особей), равное 1 %. Этот возраст мы будем называть «ожидаемой максимальной продолжительностью жизни» (ОМПЖ). Это удобно, поскольку сравнение медианной и максимальной продолжительности жизни в контрольном и опытном вариантах необходимо при характеристике свойств потенциальных геропротекторов. Точечную и интервальную оценку этого возраста можно получить, преобразовав уравнение относительно X. В этой модели все параметры являются независимыми, в отличие от модели Гомперца. При статистическом анализе часто возникает вопрос о мощности применяемых критериев, то есть об их способности выявлять статистически значимые различия между вариантами эксперимента. В общем случае применение более мощных критериев представляется предпочтительным. Анализ 60 КВ *D. melanogaster* показал, что коэффициент детерминации ЛГМС для большинства КВ близок к единице и статистически значимо ( $p < 0,01$ ) превышает коэффициент детерминации для модели Гомперца. Применив нашу модель к анализу КВ четырех линий дрозофилы и их гибридов, мы показали, что она выявляет статистически значимые межполовые различия по параметру MeПЖ в 14 случаях из 14-ти, тогда как применение традиционной модели Гомперца выявляет таковые лишь в трех случаях. Таким образом, предлагаемая нами модель обладает большей мощностью. Анализ влияния синтетических пептидных препаратов на параметры КВ выявил три основных типа геропротекторного эффекта. Геропротекторы, увеличивающие только MeПЖ, мы предлагаем называть слабыми. Геропротекторы, увеличивающие MeПЖ, но не увеличивающие ОМПЖ и уменьшающие НКВ, мы предлагаем называть умеренными. Геропротекторы, увеличивающие MeПЖ и ОМПЖ и уменьшающие НКВ мы предлагаем называть сильными.

### C5-41. МОДИФИКАЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ЧЕЛОВЕКА, КОНТРОЛИРУЮЩИХ КЛЕТОЧНЫЙ ГОМЕОСТАЗ, АНТИМУТАГЕНАМИ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫМИ АНТИКАНЦЕРОГЕНАМИ

*Михайлов В.Ф.*\*<sup>1</sup>, *Рогожин Е.А.*<sup>2</sup>, *Шишкина А.А.*<sup>1</sup>, *Шуленина Л.В.*<sup>1</sup>, *Васильева И.М.*<sup>3</sup>, *Засухина Г.Д.*<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА РФ (Москва), Россия;*

<sup>2</sup>*Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова (Москва), Россия;*

<sup>3</sup>*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия*

\*e-mail: vfmi@mail.ru

Клеточный гомеостаз обеспечивается большим числом генов, в том числе и генами, участвующими в процессе онкотрансформации. Нами в качестве модели были выбраны клетки крови пациентов с синдромом Дауна, заболеваемость которых лейкозом в 15 раз превышает общепопуляционный уровень. Методом ПЦР в реальном времени сравнивали экспрессию ряда генов, контролирующих клеточный гомеостаз, в том числе процесс онкогенеза в клетках крови здоровых доноров (40 человек) и в клетках крови пациентов с синдромом Дауна (31 пациент).

В клетках у пациентов с синдромом Дауна было обнаружено снижение функциональной активности P53 сигнальной системы стресс-ответа, обеспечиваемое достоверным уменьшением экспрессии исследованных генов-супрессоров, некоторых генов теплового шока и оксидативного стресса, по сравнению с аналогичными показателями в клетках здоровых доноров. В тоже время уровень экспрессии исследованных генов-протоонкогенов в клетках крови пациентов с синдромом Дауна был выше, чем в клетках здоровых доноров. В качестве антимутагенов – потенциальных антиканцерогенов нами были использованы  $\beta$ -пуротионин – пептид, состоящий из 45 аминокислот, выделенный из пшеницы и краун-соединение C18H26N2O7 (синтезированное в Центре фотохимии РАН). Было показано, что предобработка клеток этими препаратами влияет на уровень экспрессии генов. При этом было отмечено, что оба препарата повышают экспрессию p53 в клетках пациентов с синдромом Дауна и понижают экспрессию ряда генов-протоонкогенов в отличие от соответствующих показателей в клетках здоровых доноров. Таким образом, предложена модель клеток человека (синдром Дауна) с высокой наследственной предрасположенностью к онкотрансформации. Эта патология сопровождалась понижением экспрессии генов-супрессоров опухолевого роста и повышением экспрессии ряда генов-протоонкогенов. Было показано, что как природный ( $\beta$ -пуротионин), так и синтетический (краун-соединение) антимутагены оказывают модифицирующее влияние на экспрессию исследуемых генов.

#### C5-42. АНАЛИЗ СИНАПТИЧЕСКИХ ФУНКЦИЙ ГЕНА ПРЕСЕНИЛИН 1 ЧЕЛОВЕКА НА МОДЕЛИ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Шварцман А.Л. <sup>\*1,2</sup>, Большакова О.И. <sup>1</sup>, Саранцева С.В. <sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИЦ «Курчатовский центр» ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова (Гатчина), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ Институт экспериментальной медицины (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: aschwart1@yandex.ru

В настоящее время установлено, что появление ранних клинических симптомов болезни Альцгеймера (БА) происходит в отсутствие каких-либо признаков амилоидоза или нейрофибриллярной дегенерации и коррелирует лишь с потерей или дисфункцией синапсов. Большинство известных семейных форм болезни Альцгеймера (СБА) вызваны мутациями в гене пресенилина 1 (PS1). Предполагается, что эти мутации ведут к аномальному процессингу APP, повышенной секреции амилоидного пептида  $\beta$  (A $\beta$ ), амилоидозу, нейродегенерации и гибели нейронов. Вместе с тем сегодня нет убедительных данных о том, каковы клеточные функции PS1, и каким образом они связаны с потерей синапсов. Наш подход основан на предположении, что нарушение функций или экспрессии PS1 в нервных клетках будет вызывать нарушение синаптогенеза и поведения трансгенных животных. При исследовании роли PS1 в синаптогенезе, были использованы трансгенные линии *Drosophila melanogaster*, с экспрессией в нервных клетках PS1 человека, а также PS1 с мутациями, которые приводят к заменам M146V и P267S, и обуславливают семейные формы БА. Мы также исследовали эффекты совместной экспрессии PS1 и последовательности, кодирующей A $\beta$ 42. Анализ показал, что гиперэкспрессия гена PS1 и его мутантных форм не влияла на продолжительность жизни животных, но нарушала их поведение. Совместная экспрессия PS1 и последовательности A $\beta$ 42 усиливает эффект PS1. Методом конфокальной микроскопии показано, что экспрессия гена PS1 дикого типа и его мутантных форм в нервных клетках *Drosophila* изменяла уровень пресинаптических белков и их распределение в отделах мозга, ответ-

ственных за формирование и консолидацию памяти. Образование A $\beta$ 42 не вносило существенного вклада в эти нарушения. На модели синаптических нейромышечных контактов личинок *Drosophila melanogaster* показано, что экспрессия мутантного гена PS1 приводит к морфологическим изменениям в нейромышечных соединениях, а также к значительному уменьшению числа активных зон в синаптических окончаниях. Анализ числа и распределения митохондрий показал, уменьшение числа митохондрий в аксонах и пресинаптических терминалах. При этом, образование A $\beta$ 42 усиливало эти нарушения. Представленные данные, позволяют предположить, что мутации в гене PS1 могут обуславливать нарушения в формировании синаптических контактов при БА.

Работа поддержана грантами Российского Фонда Фундаментальных Исследований (№ 12-04-00898-а и № 13-04-00089-а).

#### C5-43. АНАЛИЗ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОВ, РЕГУЛИРУЮЩИХ ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ПОВЫШЕННЫХ ФИЗИЧЕСКИХ НАГРУЗКАХ

Горбунова В.Ю. <sup>\*</sup>, Язева А.С., Гайзуллин И.Б., Воробьева Е.В.

ФГБОУ ВПО БГПУ им. М. Акмуллы (Уфа), Россия

\*e-mail: obg\_bspu@mail.ru

Одним из интенсивно развивающихся направлений современной генетики является разработка молекулярно-генетических подходов, позволяющих определить предрасположенность человека к выполнению высоких спортивных нагрузок. Исследованы полиморфные варианты следующих генов, определяющих функционирование сердечно-сосудистой системы: инсерционно-делеционный в гене (*ACE*) ангиотензин-конвертирующего фермента, транзиции цитозина на тимин в положении 667 в гене метилтетрагидрофолатредуктазы (*MTHFR*), нуклеотидной замене G1903A в гене химазы (*CMA*), нуклеотидной замене G1691A в гене коагуляционного фактора V (*FV*), нуклеотидной замены C1747T в гене альфа-актинин (*ACTN3*), замены аминокислоты Arg719Gln в белке  $\beta$ -тяжелой цепи сердечного миозина гена (*MYH7*). Выявлены сочетания аллелей генов, ассоциированных с достижением высоких спортивных показателей: достоверное повышение частоты аллеля \*G ( $p=0,02$ ;  $x^2=5,39$ ; OR=1,86) и частоты генотипа \*G/\*G гена *MYH7* в группе профессиональных спортсменов ( $p=0,003$ ;  $x^2=9,46$ ; OR=2,71). При проведении гаплотипического анализа двух полиморфных вариантов: G1691A гена *FV* и C677T гена *MTHFR* чаще детектирован рисковый гаплотип \*T/\*A с частотой 28,8% ( $p=0,02$ ;  $x^2=5,8$ ). Аллель \*T гена *MTHFR* ассоциирован с более высокой площадью поперечного сечения мышечных волокон и их гипертрофией, при выполнении усиленных физических упражнений. При попарном сравнении частот гаплотипов полиморфных локусов: (G1903A) CMA1/B и (Arg719Gln) MYH7 достоверно значимые различия выявлены только по гаплотипу, несущему непротективные аллели гена химазы и фибриллярного белка между группой профессиональных спортсменов и общей выборкой. У лиц, имеющих данные мутации наблюдается расширение левого желудочка сердца, пролапс митрального клапана, утолщение стенки желудочковой перегородки, что приводит к нарушению работы сердечно-сосудистой системы. Были выявлены рисковые комбинации аллелей генов, регулирующих функционирование сердечно-сосудистой системы при повышенных физических нагрузках. Анализ межгенных взаимодействий показал взаимосвязь полиморфных локусов генов *ACE (I/D)*, *CMA1/B (G1903A)*, *FV (G1691A)*, *MTHFR (C677T)*, *ACTN3 (C1747T)*, *MYH7 (Arg719Gln)* в процессе формирования риска развития кардиопатологии при высоких физических нагрузках.



**\*С5-44. МЕТОДОЛОГИЯ ПОИСКА ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ, СПОСОБСТВУЮЩИХ РЕДКОМУ СОЧЕТАНИЮ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ И ТУБЕРКУЛЕЗА**

**Брагина Е.Ю.** <sup>\*1</sup>, **Конева Л.А.** <sup>1</sup>, **Тийс Е.С.** <sup>2</sup>, **Фрейдлин М.Б.** <sup>1</sup>, **Иванисенко В.А.** <sup>2</sup>, **Пузырев В.П.** <sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ НИИ медицинской генетики СО РАМН (Томск), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН

(Новосибирск), Россия

\*e-mail: elena.bragina72@gmail.com

Концепция синтропий/дистропий предполагает частое/редкое совместное развитие болезней. Например, последовательное развитие у одного индивида атопического дерматита, аллергического ринита и в дальнейшем бронхиальной астмы (БА), обозначенное как «атопический марш», представляет собой пример синтропии. Крайне редко сочетающиеся туберкулез (ТБ) и БА являются примером дистропных болезней. Мы предполагаем, что синтропные/дистропные отношения между заболеваниями обусловлены генами, участвующими в патофизиологических механизмах, способствующих или препятствующих их совместному развитию в случае синтропных и дистропных болезней, соответственно. Для определения генетических механизмов реализации взаимоотношений между болезнями мы сосредоточились на изучении БА и ТБ в качестве примера дистропии и разработали методологию поиска полиморфных вариантов генов, которые могут способствовать дистропным отношениям между ними. Мы предположили, что взаимоисключение БА и ТБ на фенотипическом уровне может быть обусловлено ко-регулируемыми генами, изменения в которых приводят к нарушению активности целого модуля генов, контролирующих определенные биологические функции, которые могут быть значимыми для развития как БА, так и ТБ. С использованием системы ANDCell (ИЦиГ, Новосибирск) построены две ассоциативные сети белков для БА и ТБ. Сравнением списков белков с последующей экспертной оценкой, учитывающей участие белка в биологическом процессе, имеющем отношение к развитию заболевания, а также правильное распознавание имени белка и правильный контекст данных, идентифицированы 247 «специфических» белков для БА и 22 «специфических» белка для ТБ, а также 19 «общих» белков, ассоциированных с БА и ТБ. Для генов «специфических» белков, используя доступные онлайн ресурсы, выявили общие факторы транскрипции, связывающиеся в местах локализации однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs) с частотой минорного аллеля не менее 10% у европеоидов, и локализованные в 5'UTR регионе гена. Выбранные SNPs были оценены относительно возможного влияния на эффективность связывания транскрипционных факторов с областью промотора. Таким способом установлены варианты в промоторных областях 5 генов (*IFNGR1*, *PACRG*, *HLX*, *CCR10*, *ETS1*), влияющие на эффективность связывания транскрипционных факторов. Выявленные SNPs «специфических» генов могут быть рассмотрены в качестве кандидатов дистропных отношений между ТБ и БА. Представленная методология может быть применена для изучения других синтропных и дистропных болезней.

**\*С5-45. СКРИНИНГ МУТАЦИЙ ГЕНОВ АТИПИЧНЫХ СЕМЕЙНЫХ МИКОБАКТЕРИОЗОВ У ЖИТЕЛЕЙ г. ТОМСКА**

**Гараева А.Ф.** <sup>\*</sup>, **Рудко А.А.**, **Брагина Е.Ю.**, **Бабушкина Н.П.**, **Фрейдлин М.Б.**, **Пузырев В.П.**

ФГБУ НИИ медицинской генетики СО РАМН (Томск), Россия

\*e-mail: gaf\_1986@mail.ru

В аспекте изучения генетической предрасположенности туберкулезу (ТБ) отдельный интерес представляет синдром атипич-

ных семейных микобактериозов, характеризующийся менделевским типом наследования, развитием тяжелых местных реакций после BCG-вакцинации и генерализованных инфекций, вызванных непатогенными микобактериями. К данному состоянию приводят мутации в 6 генах: *IL12B*, *IL12RB1*, *IFNGR1*, *IFNGR2*, *STAT1* и *NEMO*. Цель исследования - оценка вклада полиморфных вариантов генов атипичных семейных микобактериозов в развитие ТБ и его клинических особенностей у жителей г. Томска. ПЦР-ПДРФ анализ проводили с использованием 331 образца ДНК неродственных больных ТБ русских г. Томска (61 человек с первичным и 270 – со вторичным ТБ). Группа контроля составляла 279 человек. Секвенирование первичной последовательности рассматриваемых генов проводилось по методу Сэнгера. На первом этапе проводилось скрининговое исследование пациентов с наиболее тяжелым клиническим течением ТБ (n=76). Было выбрано 12 мутаций, показавших значимость в отношении развития ТБ в мире в двух и более независимых случаях. В исследуемой группе больных ТБ установлен мономорфизм по «нормальным» аллелям, что не исключало возможного наличия других причинных мутаций. Для их поиска была сформирована группа из 10 детей с генерализованными формами ТБ и тяжелыми осложнениями БЦЖ-вакцинации, у которых проведено секвенирование 40 экзонов первичной последовательности 6 рассматриваемых генов. В результате выявлено 9 описанных ранее полиморфных вариантов: *IL12RB1* - rs11575934, rs401502, rs12461312, rs17882555, rs3746190; *IL12B* - rs919766; *IFNGR1* - rs2234711, rs7749390; *STAT1* - rs2066797. Найденные SNPs были прогенотипированы у больных ТБ и в контрольной группе. В результате обнаружена ассоциация rs2066797 гена *STAT1* (p<0,05) при сравнении частот аллелей и генотипов. При разделении пациентов на группы первичного и вторичного ТБ выявлена ассоциация со вторичным ТБ с rs2066797\**STAT1* и rs2234711\**IFNGR1* (p<0,05). Продукты генов *STAT1* и *IFNGR1* играют ключевую роль в активации клеточно-опосредованного иммунитета, участвуя в передаче иммунного сигнала и активации Th-1 типа иммунного ответа. В доступной литературе и базах данных не обнаружено информации о связи полиморфизмов гена *STAT1* с ТБ. Таким образом, впервые выявлена ассоциация полиморфного варианта гена *STAT1* с ТБ, проявившего, наряду с rs2234711 гена *IFNGR1*, связь с вторичной формой заболевания у русских жителей г. Томска.

**\*С5-46. МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ ГЕНОМ И СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫЙ КОНТИНУУМ**

**Голубенко М.В.** <sup>\*</sup>, <sup>1,2</sup>, **Буйкин С.В.** <sup>1</sup>, **Салахов Р.Р.** <sup>2</sup>, **Макеева О.А.** <sup>1,2</sup>, **Пузырев В.П.** <sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ НИИ медицинской генетики СО РАМН (Томск), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО РАМН (Кемерово), Россия

\*e-mail: maria-golubenko@medgenetics.ru

Митохондриальная ДНК (мтДНК) человека характеризуется высокой степенью полиморфизма в популяциях. Учитывая ключевую роль кодируемых мтДНК белков в обеспечении основных функций митохондрии, мтДНК рассматривают в том числе, как локус подверженности сердечно-сосудистым заболеваниям. Исследования ассоциаций крупных филогенетических кластеров мтДНК (гаплогрупп) с фенотипами, входящими в сердечно-сосудистый континуум, демонстрируют противоречивые результаты. Для разрешения этих противоречий необходим анализ более мелких субгаплогрупп мтДНК и отдельных полиморфных сайтов, с одной стороны, и более детальный анализ фенотипов, с другой стороны. Нами проведен анализ ассоциаций полиморфизма мтДНК с различными фенотипами

сердечно-сосудистого континуума, как качественными (ишемическая болезнь сердца (ИБС), инфаркт миокарда, сахарный диабет, гипертрофия левого желудочка), так и количественными (уровень холестерина, эхокардиографические параметры) в различных популяциях и группах больных, с учетом возраста и пола. Получены результаты, указывающие на участие митохондриального генома в подверженности определенным заболеваниям сердечно-сосудистого континуума, а также на его вклад в изменчивость количественных фенотипов. В частности, установлена ассоциация наиболее распространенной в европейских популяциях гаплогруппы H и ее субгаплогруппы H1 с предрасположенностью к ИБС и ранней смерти от сердечно-сосудистых заболеваний. Выявлен вклад полиморфизма мтДНК в изменчивость липидного состава сыворотки крови в популяциях различного этнического происхождения. Показана возрастная динамика частоты гаплогруппы H у пациентов с ИБС; найдена ассоциация полиморфизма T16519C с индексом массы тела у женщин, разнонаправленная в группе больных ИБС и в популяционной выборке. Полученные результаты подтверждают гипотезу о функциональной роли популяционного полиморфизма мтДНК в формировании качественных и количественных фенотипов сердечно-сосудистого континуума, но свидетельствуют о сложном характере этих ассоциаций, обусловленном особенностями формирования отдельных фенотипов, а также взаимодействием с другими факторами предрасположенности.

#### \*C5-47. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ РИБОСОМНЫХ ГЕНОВ У ЧЕЛОВЕКА

**Иванов В.П.** <sup>\*1</sup>, **Трубникова Е.В.** <sup>2</sup>

<sup>1</sup> ГБОУ ВПО Курский государственный медицинский университет Минздрава России (Курск), Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВПО Курский государственный университет (Курск), Россия

\*e-mail: tr\_e@list.ru

С помощью полуквантитативного анализа дифференциально окрашенных хромосом у человека изучена функциональная активность генов (ФАРГ), кодирующих рибосомальные РНК. На значительной выборке жителей Курской области рассчитано среднее значение данного показателя, которое составило  $19,31 \pm 1,81$  условных единиц (у.е.) (95% CI  $19,17-19,45$  у.е.) и варьировало от 14,85 до 25,90 у.е. Показано, что каждая возрастная группа имеет свои особенности, которые, в конечном счете, направлены на поддержание функциональной активности рибосомных генов на адаптивном уровне. В подтверждение этому при сегрегации по полу статистически значимых различий ни по одному из признаков ни в одной из групп обнаружено не было. Для детской популяции медианное значение показателя составило 19,60 у.е. и было выше показателей взрослой группы (19,15 у.е.). Установлено, что для детской выборки уровень ФАРГ в большей степени зависит от активности рибосомных цистронов, чем от уровня ФАРГ по D и G хромосомам, в то время как во взрослой выборке – наоборот в большей степени от уровня ФАРГ по D и G хромосомам, а также от ассоциативной активности, чем от количества активных рибосомных цистронов. Также нами изучены показатели функциональной активности рибосомных генов при нескольких патогенетически самостоятельных мультифакториальных заболеваниях: детских церебральных параличах, детских аллергиях (бронхиальная астма, атопический дерматит, аллергический ринит), при патологии легких (профессиональный хронический бронхит, хроническая обструктивная болезнь легких), в группе злокачественных

лимфом, у больных с миомой матки, язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки. Каждая патология имела свои особенности: статистически значимо по сравнению с контролем уровень ФАРГ был снижен в группе детей с ДЦП, детей с бронхиальной астмой и детей с аллергическим ринитом, а также группе взрослых с ХОБЛ, со злокачественными лимфомами, и был выше для больных с язвенной болезнью и миомой матки.

#### M5-01. ИССЛЕДОВАНИЕ СВЯЗИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ И ЕЕ ОСЛОЖНЕНИЙ

**Бушueva О.Ю.** <sup>\*</sup>, **Стецкая Т.А.**, **Булгакова И.В.**, **Полоников А.В.**, **Иванов В.П.**

ГБОУ ВПО Курский государственный медицинский университет (Курск), Россия

\*e-mail: olga.bushueva@inbox.ru

Гипертоническая болезнь (ГБ) – распространенное мультифакториальное заболевание. Генетическая компонента предрасположенности к гипертонии определяется множеством генов-кандидатов. Оксидативный стресс играет важную роль в этиопатогенезе гипертонической болезни, в связи с чем особый интерес представляет изучение генов семейства параксоназа. Ген *PON2* экспрессируется эндотелиальных и гладкомышечных клетках сосудов. Известно, что параксоназа 2 снижает образование пероксидов, предотвращает апоптоз в эндотелиальных клетках сосудов и ингибирует окисление липопротеинов низкой плотности. Исследования по ассоциациям полиморфного варианта S311C гена *PON2* с развитием ГБ не проводились. Целью нашего исследования был анализ ассоциации полиморфизма S311C гена *PON2* (9 экзон) с предрасположенностью к ГБ. Материалом для исследования послужили 1120 больных ГБ, находившихся на стационарном лечении в ЛПУ г. Курска, и 783 здоровых добровольца. Исследуемые группы были сопоставимы по полу и возрасту. Все обследуемые были уроженцами Центрального Черноземья. Статистический анализ проводился с использованием программы STATISTICA 8.0. Результаты. В группе больных ГБ мы наблюдали уменьшение уровня фактической гетерозиготности ( $P < 0,05$ ), тогда как в контрольной группе распределение генотипов соответствовало ожидаемому при равновесии Харди-Вайнберга ( $p > 0,05$ ). Сравнительный анализ частот аллелей показал, что носительство мутантного аллеля С ассоциировалось с повышенным риском развития ГБ (OR=1,24 95%CI=1,07-1,42). Наблюдалось увеличение числа гомозигот по вариантному аллелю СС в группе больных (10,7%) по сравнению с контролем (7,9%): OR=1,40 95%CI=1,02-1,92; в то же время частота гомозиготного генотипа по аллелю дикого типа в контрольной группе была выше (55,7%), чем у больных ГБ (49,9%): OR=1,26 95%CI=1,05-1,51. Стратифицированный анализ не выявил связи исследуемого полиморфного варианта гена с риском развития ГБ у женщин. Однако, у мужчин носительство мутантного аллеля С увеличивало риск развития ГБ (OR=1,37 95%CI=1,12-1,67). Кроме того, мы наблюдали значительное уменьшение частоты гомозигот по дикому аллелю в группе больных ГБ мужчин (48,4%) по сравнению с контрольной (57,8%): OR=1,46, (95%CI=1,13-1,89) и увеличение частоты гетерозигот у больных ГБ мужчин (40,3%) по сравнению со здоровым контролем (34,2%): OR=1,30, (95%CI=1,00-1,69). Выводы. Установлено, что полиморфизм S311C гена *PON2* ассоциирован с риском развития ГБ в популяции Центральной России, а его фенотипические эффекты зависят от пола.

**M5-02. ЭКСПРЕССИОННЫЕ МАРКЕРЫ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА**

**Алиева А.Х.** <sup>\*,1</sup>, **Филатова Е.В.** <sup>1</sup>, **Шадрин М.И.** <sup>1</sup>,  
**Карабанов А.В.** <sup>2</sup>, **Иллариошкин С.Н.** <sup>2</sup>, **Сломинский П.А.** <sup>1</sup>  
<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН (Москва),  
Россия;  
<sup>2</sup>ФГБУ Научный центр неврологии РАМН (Москва), Россия  
\*e-mail: anelja@img.ras.ru

Болезнь Паркинсона (БП) – одно из наиболее тяжелых и распространенных нейродегенеративных заболеваний человека. В настоящее время одним из наиболее перспективных подходов к поиску новых кандидатных генов заболевания является изучение изменения экспрессии различных генов в периферической крови больных БП. По результатам биоинформатического анализа нами было отобрано 8 возможных генов-кандидатов (*ZNF746*, *ALDH1A1*, *PINK1*, *PARK7*, *PDHB*, *PGC1-A*, *ATP13A2*, *LRK2*) и 11 микро-РНК (miR-7, miR-9, miR-9#, miR-129, miR-132, miR-133b, miR-153, miR-191, miR-346, miR-433 и miR-598), исходя из их возможной роли в процессах нейродегенерации. Был проведен анализ изменения экспрессии генов-кандидатов БП и уровней микро-РНК в периферической крови пациентов с недавно поставленным диагнозом БП и групп сравнения. На данный момент не выявлено статистически значимых изменений в экспрессии 8 генов-кандидатов у пациентов с БП. Однако были показаны достоверные изменения уровней четырех микро-РНК, miR-7, miR-9, miR-9# и miR-433, в периферической крови пациентов БП. Эти результаты могут указывать на возможную роль данных микро-РНК в патогенезе БП.

**M5-03. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭПИГЕНОМИКА РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

**Скрябин Н.А.** <sup>\*,1</sup>, **Лебедев И.Н.** <sup>1</sup>, **Чердынцева Н.В.** <sup>2</sup>  
<sup>1</sup>ФГБУ НИИ медицинской генетики СО РАМН (Томск), Россия;  
<sup>2</sup>ФГБУ НИИ онкологии СО РАМН (Томск), Россия  
\* e-mail: nukulay@gmail.com

В настоящее время ведется интенсивное изучение отдельных онкогенов и онкосупрессоров при различных злокачественных новообразованиях. Однако вопросы, касающиеся вклада генетических, хромосомных и эпигенетических нарушений в развитие опухолевого процесса, остаются открытыми. Настоящее исследование было направлено на изучение спектра эпигенетических aberrаций в геноме клеток опухолей молочных желез с различной степенью злокачественности. Материал для исследования был получен у 28 женщин с раком молочной железы, в том числе образцы доброкачественных пролиферативных процессов (n = 7), злокачественных опухолей (n = 40) и регионарных лимфатических узлов с метастазами (n = 6). Анализ профиля метилирования ДНК был выполнен с помощью метилочипа «GoldenGate Methylation Cancer Panel I» («Illumina», США), включающего 1505 CpG-динуклеотидов, локализованных в 807 онкогенах и опухолесупрессорах. Для группировки исследованных образцов тканей по профилю метилирования ДНК применяли иерархический кластерный анализ. Гены, дифференциально метилированные между разными кластерами, выявляли с помощью U-критерия Манна-Уитни с поправкой на множественность сравнения (FDR). Функциональная классификация дифференциально метилированных генов была проведена согласно базе данных «Gene Ontology». В результате кластерного анализа была выявлена группа образцов с высокой степенью сходства по профилю метилирования ДНК, в которой представленность образцов с доброкачественными новообразованиями и метастазами оказалась статистически значимо выше, чем во всей остальной выборке

(p<0,001). Далее, нами был проведен анализ дифференциально метилированных генов, обусловивших разделение образцов при кластерном анализе, в результате которого была выявлена всего лишь одна группа из 12 генов, которые по молекулярным функциям относились к рецепторам, связанным с G-белками (GPCR): *HTR1B*, *PTH1R*, *OPCML*, *MAS1*, *NPR2*, *FZD9*, *EDNRB*, *GPR116*, *GALR1*, *CCAR*, *PDGFRB* и *EMR3* (p = 0,023). Полученные данные свидетельствуют о том, что ткани с доброкачественными пролиферативными процессами и метастазами в регионарные лимфоузлы являются относительно близкими с точки зрения характера метилирования ДНК, хотя и являются разными по гистологической характеристике и локализации. Сходство эпигеномов доброкачественных новообразований и метастаз может указывать на раннее обособление клона клеток с метастатическим потенциалом и свидетельствует в пользу гипотезы «параллельного метастазирования».

**M5-04. ВНУТРИОПУХОЛЕВАЯ МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: ЭКСПРЕССИОННЫЙ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОРТРЕТ**

**Денисов Е.В.** <sup>\*,1,2</sup>, **Герашенко Т.С.** <sup>1</sup>, **Гладышева Е.Г.** <sup>2</sup>,  
**Завьялова М.В.** <sup>1,3</sup>, **Литвяков Н.В.** <sup>1</sup>, **Перельмутер В.М.** <sup>1,3</sup>,  
**Чердынцева Н.В.** <sup>1,3</sup>  
<sup>1</sup>ФГБУ НИИ онкологии СО РАМН (Томск), Россия;  
<sup>2</sup>Томский государственный университет (Томск), Россия;  
<sup>3</sup>Сибирский государственный медицинский университет (Томск), Россия  
\*e-mail: dnsv.ev@gmail.com

Инвазивная карцинома без специфического типа, наиболее частая форма рака молочной железы (РМЖ), характеризуется значительной внутриопухолевой морфологической гетерогенностью (ВМГ), представленной наличием пяти типов инвазивного компонента: тубулярными, трабекулярными, альвеолярными, солидными структурами и дискретными группами опухолевых клеток. Серией исследований показан значительный вклад ВМГ в прогрессирование и результативность лечения РМЖ; однако данные о механизмах наблюдаемых ассоциаций, а также о факторах, вовлеченных в образование различных морфологических структур, в настоящее время весьма скудны. Целью настоящего исследования был анализ профилей экспрессии генов химиорезистентности (*ABCB1*, *ABCB2*, *ABCC1*, *ABCC3*, *ABCC5*, *ABCG1*, *ABCG2*) и клеточной адгезии (*CDH1*, *CDH2*, *CDH3*, *CTNNA1*, *CTNNB1*, *ITGA6*, *ITGAV*, *ITGB1*, *ITGB3*, *ITGB4*) в различных типах морфологических структур РМЖ, а также их цитогенетическая характеристика. Материалы исследования: операционный материал от четырех больных инвазивной карциномой молочной железы. Методы исследования: лазерная микродиссекция, выделение РНК и ДНК, полногеномная и полнотранскриптомная амплификация, количественная полимеразная цепная реакция (TaqMan), микроматричная сравнительная геномная гибридизация. Результаты исследования: с помощью экспрессионного анализа показано, что тубулярные и альвеолярные структуры демонстрируют низкую экспрессию генов химиорезистентности, тогда как солидные и трабекулярные – высокую. Кроме того, установлено обособленное положение тубулярных структур в плане малой представленности молекул клеточной адгезии. Описана схожесть экспрессионных профилей альвеолярных и солидных структур в плане экспрессии генов интегриновых рецепторов и части кадгеринов, схожесть трабекулярных структур и одиночных опухолевых клеток в рамках одного пациента, и высокая гетерогенность в пределах дискретных групп опухолевых клеток. С помощью микроматричной сравнительной геномной гибридизации на платформе SurePrint G3 Cancer CGH (Agilent, США) показана вариабельность изучаемых структур по хромосомным



нарушениям. На основании кластерного анализа и цитогенетического сравнения структур с лимфогенным метастазом описана модель формирования ВМГ РМЖ и ее связь с опухолевой прогрессией, проявляющаяся в схожести хромосомных нарушений между клетками солидных структур и метастаза. Заключение: различные типы морфологических структур опухоли молочной железы являются экспрессионно и цитогенетически обособленными объединениями опухолевых клеток.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (проекты 16.740.11.0606, 8595, 16.120.11.1259-МК) и гранта компании ОПТЭК (проект 1/11 КЦ).

#### M5-05. ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ГЕНОВ ТОЛЛ-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В РАЗВИТИИ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА У РУССКИХ

Галимова Г.Ф. <sup>\*1</sup>, Карунас А.С. <sup>1,2</sup>, Гуменная Э.Р. <sup>3</sup>, Левашева С.В. <sup>4</sup>, Федорова Ю.Ю. <sup>1</sup>, Хантимирова Э.Ф. <sup>4</sup>, Загидуллин Ш.З. <sup>4</sup>, Эткина Э.И. <sup>4</sup>, Хуснутдинова Э.К. <sup>1,2</sup>  
<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН (Уфа), Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ Башкирский государственный университет (Уфа), Россия;

<sup>3</sup>ГАУЗ Республиканский кожно-венерологический диспансер (Уфа), Россия;

<sup>4</sup>ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет Минздрава РФ (Уфа), Россия

\*e-mail: galiyagalimova@gmail.com

Атопический дерматит (АД) – хроническое воспалительное заболевание кожи, часто предшествующее другим аллергическим заболеваниям. В последние годы признается роль в развитии АД генов толл-подобных рецепторов, ответственных за восприятие сигналов окружающей среды и запуск первичных защитных реакций врожденного иммунитета. В данной работе исследованы однонуклеотидные полиморфные варианты (ОНП) генов толл-подобных рецепторов TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6, TLR9, TLR10 у больных АД и в контроле. Группа больных включала 177 пациентов русской этнической принадлежности, проживающих в Республике Башкортостан. Контрольную группу составили 152 русских без признаков аллергических заболеваний. ДНК выделена методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование ОНП осуществлялось методом ПЦР в реальном времени. Анализ распределения частот аллелей и генотипов исследованных полиморфных локусов выявил наиболее значимые различия между группами больных АД и контроля русской этнической принадлежности по ОНП rs5743571 гена TLR1. Аллель rs5743571\*С у больных АД встречался с частотой 88,9%, в контрольной группе его частота была ниже и составила 72,9% (p=0,0004). Частота генотипа rs5743571\*С/С в группе больных АД была равна 77,8%, в контроле данный генотип встречался реже – в 54,2% случаев (p=0,0021). Выявленные различия между выборками больных и контроля обнаружены и при анализе распределения частот аллелей и генотипов ОНП rs5743794 гена TLR6. У больных АД, по сравнению с контролем, выше частота аллеля rs5743794\*С (p=0,0017) и генотипа rs5743794\*С/С данного полиморфного локуса (p=0,002). Кроме того, у больных АД достоверно чаще встречался аллель rs5743604\*A (p=0,0432) ОНП гена TLR1 и аллель rs11466617\*Т ОНП гена TLR10 (p=0,0414). По данным литературы, в различных популяциях полиморфные локусы генов TLR1, TLR6 и TLR10 ассоциированы с развитием бронхиальной астмы и аллергического ринита, однако ассоциации ОНП данных генов с развитием АД ранее не выявлено. Таким образом, полиморфные варианты генов TLR1, TLR6 и TLR10 участвуют в формировании генетической предрасположенности к развитию атопического дерматита у русских.

#### M5-06. РОЛЬ ГЕНОВ-РЕГУЛЯТОРОВ ТРАНСКРИПЦИИ ПРИ БОКОВОМ АМИОТРОФИЧЕСКОМ СКЛЕРОЗЕ

Лысогорская Е.В. <sup>\*</sup>, Степанова М.С., Абрамычева Н.Ю., Захарова М.Н., Иллариошкин С.Н.

ФГБУ Научный центр неврологии РАМН (Москва), Россия

\*e-mail: kutakovaev@gmail.com

Нейродегенеративные заболевания, к группе которых относится боковой амиотрофический склероз (БАС), отличает сложный патогенез. К настоящему времени описано несколько основных механизмов, лежащих в основе БАС, при этом отмечена значительная заинтересованность в этом процессе белков, кодируемых транскрипционными факторами. Во многих популяциях показана роль генов *TARDBP*, *C9orf72*, *ANG* в патогенезе БАС. Значение данных генов у российских пациентов с БАС до настоящего времени не описано. Целью исследования является определение вклада генов *TARDBP*, *C9orf72*, *ANG* при развитии БАС. Проанализировано 199 спорадических случаев БАС. Группу контроля составили 385 образцов ДНК неврологически здоровых лиц. Образцы геномной ДНК выделялись из цельной крови с помощью набора для выделения Wizard GenomicDNA PurificationKit. Молекулярно-генетический скрининг проводили методами фрагментного анализа и прямого секвенирования (генетический анализатор ABI Prism 3130, Applied Biosystems). При секвенировании 6 экзона (области наиболее частого повреждения) гена *TARDBP* в спорадических случаях БАС кодирующих мутаций обнаружено не было. При этом была выявлена ассоциация заболевания с носительством делеции с.715-126delG в пятом интроне гена *TARDBP* (20% vs. 14,5% в контроле, p=0,002). При анализе отношения шансов (ОШ) носительство данной делеции повышало шанс развития заболевания в 1,7 раза (ДИ 1,11–2,57; p=0,013). Данный шанс увеличивался в подгруппе пациентов среднего (45–59 лет) возраста (ОШ=1,9; ДИ 1,02–3,62; p=0,04). Ассоциаций носительства данной делеции к клиническими особенностями заболевания (формой БАС, возрастом дебюта и характером течения заболевания) выявлено не было. Дозозависимого эффекта (усугубление тяжести течения БАС в зависимости от носительства делеции в гомо- и гетерозиготном состоянии) также не отмечалось. При исследовании единственного кодирующего экзона гена *ANG* были выявлены мутации в 1,5% случаев БАС: 2 замены в области сигнального пептида Pro21Ser (Pro(-4)Ser) и мутация Ile46Val. Все данные пациенты не являлись носителями мутаций в гене *SOD1*. При анализе клинических особенностей, характерного для повреждения гена *ANG* фенотипа БАС выявлено не было, в том числе вследствие малой выборки больных с повреждением в области *ANG*. При анализе гена *C9orf72* было обнаружено 5 случаев носительства патологически значимого числа tandemных повторов (более 50). Таким образом, частота мутации - накопления гексонуклеотидных повторов - составила 2,5%.

#### M5-07. МЕТИЛИРОВАНИЕ ГОМЕОБОКСНЫХ ГЕНОВ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

Марков А.В. <sup>\*1</sup>, Назаренко М.С. <sup>1,3</sup>, Слепцов А.А. <sup>1</sup>, Фролов А.В. <sup>2</sup>, Барбараиш О.Л. <sup>2</sup>, Барбараиш Л.С. <sup>2</sup>, Пузырев В.П. <sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ НИИ медицинской генетики СО РАМН (Томск), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО РАМН (Кемерово), Россия;

<sup>3</sup>ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России (Томск), Россия

\*e-mail: anton.markov@medgenetics.ru

В настоящее время является актуальным изучение эпигенетической вариабельности генома при многофакторных заболеваниях, в том числе, сердечно-сосудистой патологии, обусловленной атеросклеротическим поражением артерий. Особый

интерес представляют гены, вовлеченные в процессы развития и дифференцировки, так как данная категория генов может определять регионарную подверженность сосудов к атерогенезу. В настоящей работе область поиска концентрируется на группе гомеобоксных генов, белковые продукты которых содержат в своей структуре ДНК-связывающий домен и выполняют функцию регуляторов геной транскрипции. На первом этапе с помощью биологического микрочипа была выполнена оценка уровней метилирования 364 CpG-сайтов 159 гомеобоксных генов в тканях атеросклеротических бляшек правых коронарных артерий (КАБ), а также патологически неизмененных внутренних грудных артерий (ВГА) и больших подкожных вен (БПВ). Статистически значимая разница в уровнях метилирования не менее 20% между тканями КАБ и ВГА была найдена для 14 CpG-сайтов 8 генов, а между КАБ и БПВ – 38 CpG-сайтов 17 генов, соответственно. Наибольшие различия в метилировании между КАБ и непораженными сосудами были характерны для CpG-сайтов, входящих в CpG-островки генов *HOXD4* и *ALX4*. Измененный характер метилирования анализируемого района гена *HOXD4* был подтвержден на расширенной выборке тканей сосудистой стенки методом бисульфитного пиросеквенирования.

#### M5-08. ВАРИАбельНОСТЬ ГЕНОМА В ТКАНЯХ СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ РАЗЛИЧНОЙ ЛОКАЛИЗАЦИИ У БОЛЬНЫХ АТЕРОСКЛЕРОЗОМ

*Назаренко М.С.* <sup>\*1,3</sup>, *Марков А.В.* <sup>1</sup>, *Слепцов А.А.* <sup>1</sup>, *Лебедев И.Н.* <sup>1,3</sup>, *Скрябин Н.А.* <sup>1</sup>, *Фролов А.В.* <sup>2</sup>, *Барбараш О.Л.* <sup>2</sup>, *Барбараш Л.С.* <sup>2</sup>, *Пузырев В.П.* <sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ НИИ медицинской генетики СО РАМН (Томск), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО РАМН (Кемерово), Россия;

<sup>3</sup>ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России (Томск), Россия

\*e-mail: maria.nazarenko@medgenetics.ru

Концепция соматического мутагенеза в настоящее время является фундаментом молекулярной онкологии, однако она до сих пор не получила должного внимания для объяснения закономерностей развития других многофакторных заболеваний. Экспериментальные работы, связанные с изучением вариативности генома на его различных уровнях организации, у человека *in vivo* при атеросклерозе, единичны. Цель настоящего исследования заключалась в характеристике структурно-эпигенетической вариативности генома в тканях сосудистой стенки у больных атеросклерозом с использованием высоко разрешающих методов полногеномного анализа – микрочиповых технологий. Для тестирования были выбраны коронарные и внутренние грудные артерии, различающиеся по своим морфо-функциональным параметрам и степени подверженности к формированию патологического процесса. В результате с помощью матричной сравнительной геномной гибридизации на платформе SurePrint G3 Human CGH+SNP Microarray 24400K (Agilent Technologies, США) получены данные о спектре микроструктурных вариаций генома, а также идентифицированы регионы потери гетерозиготности и гены-кандидаты, которые могут быть вовлечены в формирование подверженности атеросклероза. Кроме того, использование микрочипа на платформе Infinium HumanMethylation27 BeadChip (Illumina, США) позволило установить различия в профиле метилирования ДНК анализируемых тканей сосудистой стенки, были выявлены дифференциально метилированные гены и выполнена функциональная аннотация их белковых продуктов. В целом, результаты проведенного исследования дополняют имеющиеся представления о молекулярно-генетической картине атеросклероза с точки зрения цитогенетических и эпигенетических параметров соматического мутагенеза.

#### M5-09. МИКРОСТРУКТУРНЫЕ ВАРИАЦИИ ГЕНОМА ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ

*Слепцов А.А.* <sup>\*1</sup>, *Назаренко М.С.* <sup>1,3</sup>, *Лебедев И.Н.* <sup>1,3</sup>, *Скрябин Н.А.* <sup>1</sup>, *Марков А.В.* <sup>1</sup>, *Фролов А.В.* <sup>2</sup>, *Барбараш О.Л.* <sup>2</sup>, *Барбараш Л.С.* <sup>2</sup>, *Пузырев В.П.* <sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ НИИ медицинской генетики СО РАМН (Томск), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО РАМН (Кемерово), Россия;

<sup>3</sup>ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России (Томск), Россия

\*e-mail: alexei.sleptcov@medgenetics.ru

Соматическая вариативность генома, возникающая в ходе онтогенеза, привлекает в настоящее время особое внимание в свете проблемы оценки «пропущенной или недостающей наследуемости» многофакторных признаков и заболеваний человека. В настоящем исследовании с помощью матричной сравнительной геномной гибридизации на платформе SurePrint G3 Human CGH+SNP Microarray 2x400K (Agilent, США) впервые получены данные, свидетельствующие о наличии множественных микроструктурных вариаций генома в тканях сосудистой стенки и лейкоцитах периферической крови у больных атеросклерозом. Правые коронарные артерии с атеросклеротическими бляшками отличались от патологически неизмененных внутренних грудных артерий и лейкоцитов периферической крови большим размером вариаций по числу копий крупных участков ДНК (CNV) и числом локализованных в них генов. Большая часть структурных вариаций генома в тканях, пораженных атеросклеротическим процессом (от 68 до 91% у каждого из пациентов), имела соматическое происхождение. В анализируемых тканях с вариативной частотой идентифицированы две амплификации в хромосомных субсегментах 1q23.1 (*OR10Z1*, *SPTA1*, *OR6K2*) и 7p15.2 (*SKAP2*), не представленные в Базе данных CNV у здоровых индивидов (Database of Genomic Variants).

#### M5-10. АНАЛИЗ РОЛИ ТРАНСКРИПТОМА ПЛАЦЕНТАРНОЙ ТКАНИ И НАСЛЕДСТВЕННОЙ ВАРИАбельНОСТИ ГЕНОМА В РАЗВИТИИ ПРЕЭКЛАМПСИИ

*Трифорова Е.А.* <sup>\*1</sup>, *Ершов Н.И.* <sup>2</sup>, *Габидулина Т.В.* <sup>3</sup>, *Сереброва В.Н.* <sup>1</sup>, *Степанов В.А.* <sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НИИМГ» СО РАМН (Томск), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>3</sup>ФГБУ «НИИАГиП» СО РАМН (Томск), Россия

\*e-mail: ekaterina.trifonova@medgenetics.ru

С развитием постгеномных технологий все большую актуальность приобретают исследования, проводимые в контексте системной биологии. В представленной работе применялся один из таких подходов - интегративный анализ паттернов транскриптома и наследственной вариативности генома для характеристики молекулярных механизмов и идентификации перспективных генов-кандидатов преэклампсии, являющейся одним из наиболее тяжелых гестационных осложнений. Согласно современным представлениям, в развитии преэклампсии ведущую роль играют нарушение инвазии цитотрофобласта в спиральные артерии матки и формирование синдрома ишемии-реперфузии в плаценте, что свидетельствует об актуальности изучения молекулярных процессов, протекающих в данном органе при физиологической и патологической беременности. Полногеномный анализ экспрессионных профилей плацентарной ткани с помощью технологии микрочипов выявил 63 статистически значимо дифференциально экспрессирующихся гена (ДЭГ) между пациентками с преэклампсией и физиологической беременностью. Результаты функциональной аннота-

ции которых свидетельствуют о ряде биологических процессов, которые принимают участие в развитии ПЭ: реакции на стресс, процессы иммунной системы, регуляция клеточных коммуникаций, внутриклеточные сигнальные каскады и др. Кроме того, в настоящей работе были выявлены особенности дифференциальной экспрессии генов в зависимости от степени тяжести ПЭ и получены доказательства важной роли молекулярных механизмов, обуславливающих нарушения иммунологической толерантности и запуск провоспалительного каскада в развитии тяжелой формы данной патологии. Необходимо отметить, что кластер ДЭГ с повышенным уровнем экспрессии наряду с известными генами-кандидатами, выявленными ранее во многих зарубежных полногеномных исследованиях экспрессионных профилей плаценты при преэклампсии (к примеру, *LEP*, *BHLHB2*, *BCL6*) включал также новые гены (*ANKRD37*, *SYDE1*, *CYBA*, *ITGB2* и др.), которые могут рассматриваться в качестве новых биомаркеров ПЭ и являются перспективными для дальнейшего изучения. Так, сравнительный анализ распределения частот аллелей и генотипов 56-ти полиморфных маркеров наиболее значимых тринадцати ДЭГ между пациентками с ПЭ (N=160) и женщинами с физиологической беременностью (N=210) выявил ассоциацию с развитием ПЭ 9-ти полиморфных вариантов следующих генов: *CORO2A*, *PLIN2*, *BHLHE40*, *RDH13*, *SIGLEC6*, *SYDE*, *LEP*, *BCL6*. Необходимо отметить, что пять полиморфных вариантов из девяти ассоциированных были локализованы в сайтах связывания транскрипционных факторов, что демонстрирует значимую роль регуляторных участков генома человека в подверженности к ПЭ.

#### **M5-11. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ НЕЙРОНОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ОТ ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ГЕНТИНГТОНА И ЗДОРОВЫХ ПАЦИЕНТОВ**

***Некрасов Е.Д.*** <sup>\*1,2</sup>, ***Кострюкова Е.С.*** <sup>3</sup>, ***Говорун В.М.*** <sup>3</sup>, ***Лагарькова М.А.*** <sup>1</sup>, ***Киселев С.Л.*** <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>Московский физико-технический институт (государственный университет) (Москва), Россия;

<sup>3</sup>Научно-исследовательский институт физико-химической медицины ФМБА России (Москва), Россия

\*e-mail: evgeny.nekrasov@phystech.edu

Цель данной работы заключалась в сравнении ГАМК-эргических нейронов стриатума, дифференцированных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) от пациентов с болезнью Гентингтона и здоровых пациентов. Болезнь Гентингтона – это неизлечимое наследственное нейродегенеративное заболевание, наследуемое по аутосомно-доминантному типу. Распространенность болезни Гентингтона в странах Западной и Восточной Европы, США, Канаде 3-7 случаев на 100000 населения. Болезнь обычно начинается в возрасте 35-50 лет и неминуемо приводит к смерти. На клеточном уровне болезнь характеризуется прогрессирующей гибелью ГАМК-эргических нейронов стриатума. Молекулярные механизмы болезни Гентингтона в значительной мере не изучены. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки получают из соматических клеток пациентов, они способны неограниченно расти в культуре и дифференцироваться во все типы клеток. Технологии ИПСК позволяют преодолеть проблему ограниченного доступа исследователей к мутантным человеческим ГАМК-эргическим нейронам стриатума. Такие нейроны могут быть использованы для изучения молекулярных механизмов болезни Гентингтона и поиска новых лекарств. Ранее нами были получены ИПСК от

пациентов с болезнью Гентингтона. Был разработан эффективный протокол дифференцировки плюрипотентных стволовых клеток человека в ГАМК-эргические нейроны стриатума. С использованием дифференцированных нейронов, был проведен поиск фенотипических различий между нейронами мутантными и дикого типа, также был проведен сравнительный полнотранскриптомный анализ. В результате проведенных исследований были обнаружены различия в фенотипе и экспрессии генов, которые хорошо согласуются с современными представлениями о болезни Гентингтона.

#### **M5-12. СОЗДАНИЕ МОДЕЛИ БОКОВОГО АМИОТРОФИЧЕСКОГО СКЛЕРОЗА НА ОСНОВЕ ПАЦИЕНТ-СПЕЦИФИЧЕСКИХ ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

***Честков И.В.*** <sup>\*1</sup>, ***Васильева Е.А.*** <sup>1</sup>, ***Иллариошкин С.Н.*** <sup>2</sup>, ***Лагарькова М.А.*** <sup>1</sup>, ***Киселев С.Л.*** <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ «Научный центр неврологии» РАМН (Москва), Россия  
\*e-mail: ichestkov@vigg.ru

Боковой амиотрофический склероз (БАС) – это поздноразвивающееся прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, характеризующееся специфической гибелью моторных нейронов спинного и головного мозга. На сегодняшний день не существует эффективной диагностики ранних этапов развития данного заболевания. Наиболее распространенная семейная форма БАС (20% от всех семейных случаев) ассоциирована с мутациями в гене Cu/Zn супероксиддисмутазы 1 (SOD1) с аутосомно-доминантным типом наследования. Ранее было показано, что развитие БАС не связано с нарушением или потерей ферментативной активности SOD1. Предполагается, что неправильно свернутый мутантный SOD1 может оказывать специфический токсичный эффект на моторные нейроны, при этом в процесс могут быть вовлечены другие типы клеток, такие как астроциты и микроглия. Технология генетического репрограммирования позволяет получать плюрипотентные стволовые клетки индивидуально для каждого пациента. Полученные индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (иПСК) могут стать неограниченным ресурсом для получения специализированных типов клеток организма. Мы применили технологию репрограммирования для получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток пациентов с семейными формами БАС. Полученные линии иПСК обладают свойствами плюрипотентных клеток и способны к направленной дифференцировке в моторные нейроны.

#### **M5-13. ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ СИНТЕТИЧЕСКОГО РЕГУЛЯТОРНОГО ПЕПТИДА СЕЛАНК**

***Коломин Т.А.*** <sup>\*</sup>, ***Волкова А.П.***, ***Шадрина М.И.***, ***Сломинский П.А.***, ***Лимборская С.А.***, ***Мясоедов Н.Ф.***

ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН (Москва), Россия

\*e-mail: kotimur@img.ras.ru

Одним из наиболее перспективных лекарственных средств в терапии тревожных расстройств и хронической депрессии является синтетический аналог природного иммуномодулятора тафцина – селанк. Не смотря на широкий спектр клинических эффектов, механизм действия данного пептида до сих пор до конца не изучен. Высказано предположение, что в основе действия селанка лежит его способность воздействовать на основ-



ные нейромедиаторные системы организма на разных уровнях, в том числе на уровне транскриптома. Нами была проведена оценка действия селанка и основного тормозного медиатора ЦНС – ГАМК на экспрессию 84 генов, вовлеченных в нейрорецепцию и регуляцию работы ГАМК-ергической системы в мозге крыс через 1 и 3 часа после введения данных соединений. Особый интерес вызывает наличие значительных изменений в экспрессии гена *Hcrt*, кодирующего белок-предшественник нейропептидов орексина А и орексина В, через 1 и 3 часа после введения селанка и ГАМК. Наблюдается снижение уровня мРНК этого гена через 1 час после введения обоих соединений и 100-кратное повышение его экспрессии спустя 3 часа после введения селанка. Детальная оценка профиля экспрессии гена *Hcrt* после введения ГАМК, селанка и его короткого фрагмента *Gly-Pro* показала, что спустя 1 час после введения каждого из исследуемых соединений наблюдается значительное снижение уровня мРНК этого гена, в то время как через 3 часа отмечен значительный рост его экспрессии в ответ на введение только селанка и *Gly-Pro*. Одной из основных функций орексинов является регуляция системы «сон-бодрствование». Как известно, повышение экспрессии гена *Hcrt* связывают со сдвигом этого баланса в сторону бодрствования. Следовательно, подобное повышение уровня мРНК данного гена на поздних временных интервалах после введения селанка может частично объяснить отсутствие у него гипноседативного действия, характерного для классических анксиолитиков и антидепрессантов бензодиазепинового ряда.

#### М5-14. ЭФФЕКТЫ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА РАЗЛИЧНЫХ УРОВНЯХ ОРГАНИЗАЦИИ ХРОМОСОМ В ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

*Васильев С.А.*<sup>\*1</sup>, *Мельников А.А.*<sup>2</sup>, *Толмачева Е.Н.*<sup>1</sup>, *Лебедев И.Н.*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ НИИ медицинской генетики СО РАМН (Томск), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ НИИ онкологии СО РАМН (Томск), Россия

\*e-mail: stas.vasilyev@gmail.com

Механизмы воздействия ионизирующего излучения на соматические клетки человека в условиях профессиональной деятельности, а также при проведении терапевтических процедур остаются предметом пристального внимания. В ходе многолетних исследований по анализу цитогенетических эффектов у персонала радиохимического производства проведен анализ уровня хромосомных нарушений и разрывов ДНК в лимфоцитах периферической крови работников, подвергающихся воздействию инкорпорированного плутония-239 и внешнего гамма-излучения. Выявлен ряд корреляций между различными типами хромосомных повреждений, в частности, между частотами структурных и числовых хромосомных нарушений. Кроме того, в экспериментах с воздействием ионизирующего излучения *in vitro* обнаружена обратная зависимость между спонтанным уровнем фокусов  $\gamma$ H2AX, являющихся маркером двунитевых разрывов ДНК, и радиационно-индуцированным уровнем микроядер. Сходная корреляция наблюдалась и в группе онкологических больных между спонтанным уровнем фокусов  $\gamma$ H2AX до начала лучевой терапии и частотой хромосомных aberrаций после окончания воздействия. Наличие в клетке фокусов  $\gamma$ H2AX вызывает активацию контрольных точек клеточного цикла и предположительно активирует системы репарации двунитевых разрывов ДНК в клетке, что, по-видимому, приводит к более эффективному удалению вновь возникающих радиационно-индуцированных повреждений ДНК или клеток, несущих такие повреждения. Также, в лимфоцитах периферической крови лиц, подвергающихся воздействию ионизирующего излучения

в ходе профессиональной деятельности, обнаружено повышение частоты не только структурных, но и числовых хромосомных нарушений. Сходное повышение частоты анеуплоидии наблюдалось у онкологических больных, проходящих курс нейтронной терапии. С целью поиска механизмов возникновения радиационно-индуцированной анеуплоидии в лимфоцитах периферической крови работников радиохимического производства проведен анализ глобального уровня метилирования ДНК, в результате которого обнаружена корреляция между уровнем метилирования промотора ретротранспозона LINE-1 и частотой хромосомного отставания. Вероятно, это связано с радиационно-индуцированным окислением метилированного цитозина в ДНК, что приводит, в частности, к изменению конформации блоков прицентромерного гетерохроматина и, как следствие, к хромосомному отставанию. Таким образом, в проведенных исследованиях установлена частота повреждений на различных уровнях организации хромосомного материала в клетках человека при воздействии ионизирующего излучения в ходе профессиональной деятельности и при проведении терапевтических процедур и установлены связи между этими нарушениями. Исследование выполнено при поддержке грантов ФЦП № 16.512.11.2063, П1748, П1707, П1080, Гранта Президента МК-6806.2013.4.

#### М5-15. ПОДГОТОВЛЕННОСТЬ КОНСУЛЬТИРУЮЩИХСЯ К МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОМУ КОНСУЛЬТИРОВАНИЮ (МГК): ИНФОРМИРОВАННОСТЬ

*Баранова Е.Е.*<sup>\*1</sup>, *Сергеев А.С.*<sup>2</sup>, *Иванова Л.Ю.*<sup>3</sup>, *Журавлева И.В.*<sup>3</sup>, *Ижевская В.Л.*<sup>2</sup>, *Гинтер Е.К.*<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ДПО Российская медицинская академия последипломного образования Минздрава РФ (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ Медико-генетический научный центр РАМН (Москва), Россия;

<sup>3</sup>ФГБУН Институт социологии РАН (Москва), Россия

\*e-mail: baranova.gen@gmail.com

МГК – вид специализированной помощи семьям, в которых есть больные наследственными заболеваниями или риск рождения больного ребенка. Успешное развитие медико-генетической помощи невозможно без оценки МГК в динамике. В отечественной литературе мало представлена оценка коммуникативной составляющей МГК. Целью нашего исследования была разработка комплексной оценки эффективности МГК семей, имеющих больных с наследственной патологией. Исследование проводилось путём двукратного анкетирования пациентов (n=226), обратившихся для МГК (до консультации и после получения заключения врача-генетика). На эффективность МГК может влиять исходный уровень информированности консультирующихся. Для оценки первоначального уровня информированности консультирующихся в анкете №1 им был предложен ряд проверочных вопросов и, по ответам на них, была оценена доля ответивших пациентов. Выявлена неуверенность примерно у 50% респондентов в определении значений генетического риска повторения наследственного заболевания в их семье, как в количественном (%), так и в качественном отношении (степень риска). Наибольшее затруднение также вызвали вопросы «Всегда ли наследственное заболевание встречается у нескольких членов семьи?», «Может ли изменение генов вызвать заболевание?» и «Может ли ребенок с наследственным заболеванием родиться у здоровых супругов?». Около трети консультирующихся не могли ответить на эти вопросы. На вопрос: «Известно ли Вам о дородовой диагностике наследственного заболевания в семье» только 39 (17%) консультирующихся ответили, что им известно о такой возможности. Информированность у обратившихся самостоятельно (n=85, 37%) по ряду вопросов была

ниже, чем у обратившихся по направлению врачей, в том числе врачей-генетиков ( $n=141$ , 63%), однако эти группы достоверно различались только в ответе на вопрос: «Известно ли Вам о дородовой диагностике наследственной патологии у плода во время беременности?» (критерий Манна-Уитни,  $p=0,039$ ). Для выявления связи уровня информированности консультирующихся с их демографическими, социальными и медицинскими характеристиками был проведен корреляционный анализ с применением критерия Спирмена, который показал, что мужчины достоверно чаще отрицательно отвечали на вопрос «Может ли ребенок с наследственным заболеванием родиться у здоровых супругов?» ( $r = -0,3$ ). Наше исследование показывает, что врач-генетик во время консультации должен уделять особое внимание информационной компоненте МКК, что, возможно, будет способствовать повышению ее эффективности.

#### М5-16. НОВОЕ В ГЕНЕТИКЕ ГЕСТОЗА

**Глотов А.С.** <sup>\*1</sup>, **Пакин В.С.** <sup>1</sup>, **Вашиукова Е.С.** <sup>1</sup>,  
**Михайлин Е.С.** <sup>3</sup>, **Тийс Е.С.** <sup>2</sup>, **Иванисенко В.А.** <sup>2</sup>,  
**Аржанова О.Н.** <sup>1</sup>, **Мозговая Е.В.** <sup>1</sup>, **Зайнулина М.С.** <sup>1</sup>,  
**Баранов В.С.** <sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБУ НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>3</sup>ГБУЗ Родильный дом № 10 (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: anglotov@mail.ru

Доклад суммирует результаты многолетних исследований генетических причин гестоза – одного из наиболее тяжелых осложнений беременности. Ряд исследователей полагают, что гестоз определяется нарушениями развития плаценты вследствие дезрегуляции работы генов, ответственных за имплантацию и плацентацию, нарушениями экспрессии генов регуляторных микроРНК и процессов метилирования. Риск заболевания связывают так же с «дефектами» материнских генов

или с изменениями баланса «работы» геномов плода и матери. Остается, однако, неизвестным какие из этих нарушений являются первичными. Нами проведено комплексное исследование генетических причин гестоза (в том числе и в зависимости от сочетанной патологии), включающее: анализ соответствующих «генных сетей», полиморфизма генов «тромбофилии», «эндотелиальной дисфункции», «метаболизма липидов», секвенирование гена *ACVR2A*, а так же исследование профиля экспрессии генов микроРНК. Использование компьютерной системы ANDCell позволило нам впервые провести реконструкцию ассоциативной сети, отражающую молекулярно-генетические взаимодействия между синтропными генами, ассоциированными с гестозом, сахарным диабетом, гестационным диабетом и ожирением (гены *VEGF*, *REN*, *LPL*, *SERPINE1*), выявить дифференцированные и общие факторы риска данных заболеваний и предположить некоторые наиболее вероятные механизмы развития гестоза у беременных женщин. Анализ полиморфизма генов *REN* (19-83G>A), *AGT* (M235T), *AGTR1* (1166A>C), *AGTR2* (3123C>A), *BKR2* (58T>C), *ADRB2* (48A>G, 81C>G), *MTHFR* (677C>T), *NOS3* (-786T>C), *APOE* (Cys112Arg, Arg158Cys), *LPL* (Ser447Ter), *F5* (1691G>A), *GPIIIa* (196C>T), *PAI1* (4G/5G), *FGB* (455G>A), *F2* (20210G>A) выявил не только генетические маркеры, ассоциированные с гестозом (варианты генов *PAI1*, *AGTR2*, *MTHFR*), но и позволил построить математическую модель риска развития гестоза на фоне варикозного расширения вен и хронического пиелонефрита. Анализ данных полногеномного секвенирования нуклеотидной последовательности гена *ACVR2A* и профиля экспрессии генов микроРНК выявил принципиально новые маркеры риска данной патологии. С позиции системной генетики обсуждаются возможные причины развития гестоза и перспективы его дальнейшего изучения. Работа выполнена при частичной поддержке Гранта Президента Российской Федерации №16.120.11.5773-МК, научных тем ФГБУ «НИИАГ им.Д.О.Отта» СЗО РАМН и ресурсного центра «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.

# НЕЙРОГЕНЕТИКА И ГЕНЕТИКА ПОВЕДЕНИЯ

## НЕПОСТОЯНСТВО ГЕНОМА ОБУЧАЮЩЕГОСЯ МОЗГА

*Анохин К.В.*

*Отдел нейронаук, НИЦ Курчатовский институт (Москва),  
Россия*

e-mail: k.anokhin@gmail.com

Одним из центральных положений молекулярной биологии является представление о стабильности генома соматических, в том числе нервных клеток. В настоящем сообщении будут рассмотрены данные, накапливающиеся на протяжении ряда лет в нашей и других лабораториях, заставляющие рассматривать вопрос о стабильности генома взрослого мозга как открытый. Эти результаты могут быть сгруппированы в три раздела. Во-первых, в клетках взрослого мозга обучающихся животных наблюдается увеличение синтеза ДНК. Иммуногистохимическая локализация 5-бром-2'-дезоксинуридина (БрдУ) в мозге обучавшихся взрослых животных выявляет появление БрдУ-содержащих клеток как в классической пролиферативной зоне – зубчатой фации гиппокампа, так и в неокортексе. Во-вторых, в результате обучения и обогащения среды в ДНК клеток мозга у взрослых мышей появляются добавочные копии мобильных генетических ретроэлементов семейства L1. В третьих, ДНК-интерференция с помощью нуклеозидных аналогов, в том числе специфических ингибиторов обратной транскрипции, нарушает память у экспериментальных животных. Этот эффект наблюдается лишь при ДНК-интерференции в короткое время вокруг периода приобретения нового опыта и специфически касается долговременной, но не кратковременной памяти. В совокупности эти данные позволяют заключить, что вопросы о нестабильности генома клеток взрослого мозга во время поведения и обучения и его возможной функциональной роли заслуживают специального исследования.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ К ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНЫМ ЭФФЕКТАМ СТРЕССА

*Дыгало Н.Н.*<sup>1,2</sup>

*<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН  
(Новосибирск), Россия;*

*<sup>2</sup>Новосибирский национальный исследовательский университет  
(Новосибирск), Россия*

\*e-mail: dygalo@bionet.nsc.ru

Депрессивное состояние может быть обусловлено нарушениями нейротрансмиссии в головном мозге, функции гормональной системы стресса, нейротрофинов и цитокинов у наследственно предрасположенных индивидов, попавших под влияние факторов риска стрессорной или инфекционной природы. В

исследованиях полногеномных ассоциаций (GWAS) обнаружены связи ряда ключевых генов, определяющих функцию этих систем, с проявлениями психопатологии. Существенное значение для проявления заболевания может иметь и эпигенетическое программирование в раннем онтогенезе. Современные данные свидетельствуют о важной роли процессов пластичности и жизнеспособности нейронов в обеспечении устойчивости индивида к формированию психоэмоционального расстройства и выходу из него. Стресс предрасполагает к формированию депрессии, угнетая нейрогенез и усиливая апоптоз в мозге. По психоэмоциональной устойчивости к действию стресса имеются существенные индивидуальные различия. Эти различия, по крайней мере, частично, могут быть связаны с особенностями экспрессии в мозге про- и анти-апоптозных белков. Повышение экспрессии анти-апоптозных белков семейства Bcl-2 в гиппокампе и корковых структурах является важным фактором устойчивости к развитию индуцированной стрессом депрессии. Повышение генной экспрессии этих белков может также вовлекаться в терапевтическое действие антидепрессантов. Эффекты анти-апоптозных белков в связи с проявлениями симптомов депрессии находятся в тесной связи с активностью нейротрансмиттерных систем, на что указывает выявленный фазный и скоординированный характер изменений экспрессии анти-апоптозного белка Bcl-xL и триптофангидроксилазы-2, фермента синтеза нейротрансмиттера серотонина, ассоциированного с проявлениями и терапией психоэмоциональных расстройств, на разных стадиях формирования патологии. Проведенный фармакологический анализ выявил свидетельства возможного и неожиданного психо-протекторного эффекта глюкокортикоидных рецепторов в условиях стресса. В целом, изменения экспрессии нейрогенов в условиях стресса отражают последствия его негативных эффектов на мозг и активацию механизмов, защищающих индивида от психопатологических эффектов стресса. Соотношение этих антагонистических процессов, очевидно, и определяет предрасположенность или устойчивость к формированию депрессивного состояния. Работа поддержана РФФИ 13-04-40014-Н; МКБ 6.20.; ФНМ-07.

## НЕЙРОТРОФИНЫ КАК ФАКТОРЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТИ МОЗГА

*Попова Н.К.\*, Науменко В.С., Базовкина Д.В.,  
Тихонова М.А.*

*ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН  
(Новосибирск), Россия*

\*e-mail: npopova@bionet.nsc.ru

Нейротрофины мозга не только участвуют в развитии нервной системы, но и являются существенным элементом нейрогенеза



и нейропластичности зрелого мозга. В докладе будут приведены результаты собственных исследований и данные литературы о влиянии нейротрофического фактора мозга (BDNF) на эпигенетически и генетически детерминированные нарушения поведения. Особое внимание будет уделено роли генотипа и участию серотониновой системы мозга в эффектах BDNF. Приводимые доказательства свидетельствуют о том, что: 1) введенный однократно центрально BDNF оказывает длительно сохраняющееся положительное действие на некоторые генетически детерминированные формы патологического поведения; 2) BDNF способен ослаблять проявления нарушений поведения, вызванные повреждающими средовыми факторами (стресс и алкоголь), действовавшими в пренатальный период; 3) ключевые гены серотониновой системы мозга вовлечены в механизмы действия BDNF.

### ПОИСК НОВЫХ ГЕНОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В НАЧАЛЬНЫЕ СТАДИИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИИ ПРИ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА, С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НЕЙРОТОКСИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Шадрина М.И. \*, Алиева А.Х., Филатова Е.В.,  
Сломинский П.А.

ФГБУН Институт молекулярной генетики (Москва), Россия  
\*e-mail: shadrina@img.ras.ru

На сегодняшний день факторы, инициирующие развитие процессов нейродегенерации при болезни Паркинсона (БП), остаются малоизученными. Одним из перспективных подходов к поиску механизмов и генов, задействованных на начальных этапах развития патологического процесса при БП, является изучение изменения транскриптома в мозге мышей с нейротоксической моделью ранних стадий БП. Для этого нами был проведен полнотранскриптомный анализ тканей стриатума и черной субстанции мозга мышей с нейротоксической (МФТП) моделью с досимптомной и ранней симптомной стадиями БП. В результате было показано, что на ранних стадиях нейродегенерации важную роль играют метаболические процессы, поддерживающие нормальное функционирование синапса. Впервые было показано, что одну из важных ролей в патогенезе заболевания может играть ген *Epn2*, принимающий участие в эндцитозе и формировании синаптических везикул. Полученные нами данные указывают на связь развития БП с нарушением функционирования синапса и роль гена *Epn2* при развитии данного заболевания.

### ЭФФЕКТЫ СТРЕССОРНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ НА ЭКСПРЕССИЮ НЕЙРОГЕНОВ В МОЗГЕ В СВЯЗИ С РАЗВИТИЕМ ДЕПРЕССИИ

Шишкина Г.Т. \*, Калинина Т.С., Баблюк Е.В.,  
Бульгина В.В., Дыгало Н.Н.

ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН  
(Новосибирск), Россия  
\*e-mail: gtshi@bionet.nsc.ru

Стрессорные события - важнейшие факторы риска возникновения депрессии, могут также изменять экспрессию различных генов и их белковых продуктов в областях мозга, в числе которых и ключевые для регуляции психоэмоциональных ответов на стресс структуры. Однако среди огромного множества фиксируемых изменений, их значение для развития психопатологии остается в значительной степени неясным. В нашей работе, используя модели депрессии, индуцированной стрессом вынужденного плавания разной продолжительности или хроническим ограничением подвижности животных,

было обнаружено, что для возникновения первого эпизода психоэмоционального расстройства значительную роль играет стрессорное повышение уровня глюкокортикоидов в периферической циркуляции. Блокада стрессорного повышения секреции гормонов метирапоном предотвращала появление симптомов поведенческой беспомощности, в то время как восстановление гормонального сигнала нивелировало эффект метирапона. Однако острое непродолжительное воздействие глюкокортикоидов через увеличение экспрессии глюкокортикоидных рецепторов (GR) в префронтальной коре может повысить психоповеденческую устойчивость к последующему стрессорному воздействию. Обнаруженное после острого стресса увеличение экспрессии генов и белков мозгового нейротрофического фактора (BDNF), антиапоптозного белка (bcl-xL), ключевого фермента синтеза серотонина триптофангидроксилазы-2 (TRH2) и серотонинергических рецепторов 1A типа (HTR1A), также, по-видимому, направлено, прежде всего, на противодействие негативным эффектам стресса. Более того, выяснилось, что способность к повышению экспрессии антиапоптозного белка на стресс в гиппокампе важно для определения устойчивости к индуцируемой стрессом депрессии. На уровне стволовой части мозга этот белок может вовлекаться и в антидепрессантное действие препаратов. Длительное введение антидепрессанта флуоксетина увеличивало острое стрессорное повышение генной экспрессии bcl-xL в стволе мозга, изменение, которое совпадало по времени с проявлением антидепрессантного эффекта препарата. Эффекты стрессоров на экспрессию генов могут зависеть от продолжительности стрессорного воздействия. Так, в отличие от повышающего влияния острого стресса на экспрессию TRH2 и bcl-xL в большинстве серотонинергических ядер шва, уровень белков этих генов был либо не изменен, либо даже снижен после длительных, в течение двух недель, стрессорных воздействий, приведших к выраженному развитию симптомов депрессивно-подобного состояния у животных. В целом, эффекты стрессорных воздействий на экспрессию нейрогенов в связи с индукцией депрессии, а также формированием устойчивости к ее развитию зависят от продолжительности действия стрессора, отдела мозга и предшествующего стрессорного опыта. Работа поддержана грантом РФФИ №12-04-01102.

### ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ *BDNF* И *CASPASE-3* В НЕОНАТАЛЬНОМ МОЗГЕ КРЫС: РЕГИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ И ВЗАИМОСВЯЗЬ С НАРУШЕНИЯМИ ПОВЕДЕНИЯ

Меньшианов П.Н. \*,<sup>1</sup>, Баннова А.В. <sup>1</sup>, Ланиаков Д.А. <sup>1,2</sup>,  
Кулешова А.Е. <sup>2</sup>, Дыгало Н.Н. <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН  
(Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет (Новосибирск), Россия

\*e-mail: eternity@bionet.nsc.ru

Продукты генов *bdnf* и *caspase-3* являются важными участниками процесса формирования головного мозга в ходе перинатального развития. Оба белковых продукта гена *bdnf* – зрелый нейротрофин mBDNF и его проформа – proBDNF способны разнонаправленно влиять на уровень активной каспазы-3 *in vitro*. Вместе с тем, до сих пор неизвестно, зависит ли уровень активной каспазы-3 от уровней mBDNF и proBDNF *in vivo* в ходе нормального развития мозга. Также неясно, сопровождаются ли изменения уровней продуктов этих генов в мозге животных, подвергшихся воздействию глюкокортикоидами, нарушениями поведения у таких животных. В отделах развивающегося мозга

выявлена обратная зависимость между уровнем зрелого нейротрофина BDNF и активной каспазы-3. Наименьший уровень mBDNF и наибольший уровень каспазы-3 обнаружены в коре мозга. Уровень proBDNF в большинстве отделов мозга был сопоставим с уровнем зрелой формы и не ассоциирован с уровнем активной каспазы-3. Однако в коре мозга пронейротрофин является основным продуктом гена *bdnf*, а его уровень сопряжен с уровнем ключевой протеазы апоптоза. Следовательно, взаимосвязь уровней пронейротрофина и активной каспазы-3 проявляется в ходе нормального формирования мозга лишь на фоне доминирования уровня proBDNF над уровнем mBDNF. Изменения уровней пронейротрофина и его зрелой формы, наблюдаемые в отделах мозга в первые дни после однократного воздействия глюкокортикоидами, не были сопряжены с ранними нарушениями поведения крысят. В то же время, пик индуцированной дексаметазоном активации каспазы-3, наблюдаемый в префронтальной коре крысят на 8 день жизни, совпадал по срокам с периодом проявления максимальных нарушений поведения животных в новой обстановке. В дальнейшем, у таких животных были обнаружены нарушения поведения при тестировании в приподнятом крестообразном лабиринте, а также в тесте вынужденного плавания и закапывания шариков. Таким образом, уровень активной каспазы-3 в созревающем мозге в норме зависит от баланса зрелой и незрелой форм нейротрофина BDNF, а индуцированная дексаметазоном чрезмерная активация этого фермента в префронтальной коре неонатального мозга сопровождается поведенческими нарушениями не только в первые дни после воздействия, но и в ходе дальнейшего развития этих животных.

Работа поддержана РФФИ 13-04-40014-Н, 14-04-00219, 14-04-31447, МК-1207.2014.4, НШ-3658.2014.4.

#### НЕЙРОАНАТОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И СТРЕСС-РЕАКТИВНОСТЬ МЫШЕЙ, СЕЛЕКЦИОНИРОВАННЫХ НА ВЫСОКУЮ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К КАТАЛЕПСИИ

*Тихонова М.А.*<sup>\*</sup>, *Куликов А.В.*, *Куликова Е.А.*, *Акулов А.Е.*, *Базовкина Д.В.*, *Цыбко А.С.*, *Попова Н.К.*

*ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия*

\*e-mail: mar\_tikh@bionet.nsc.ru

Каталепсия является синдромом тяжелых психических и неврологических заболеваний человека, включая депрессию, и представляет собой состояние длительной обездвиженности, неспособность корректировать внешне приданную неестественную позу в ответ на различные воздействия стрессорного характера. В работе исследованы: 1) ассоциация генетически обусловленной каталепсии с нейроанатомическими особенностями; 2) чувствительность выраженности каталепсии, реакции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси и серотониновой (5-HT) системы мозга к эмоциональному стрессу (ограничение подвижности в течение 1 часа) у мышей каталептических (CBA/Lac, ASC/Icg (Antidepressant Sensitive Catalepsy), конгенная линия AKR.CBA-D13M76) и некаталептической (AKR/J) линий. С помощью магнитно-резонансной томографии обнаружено, что у мышей каталептических линий уменьшен размер гипофиза и увеличен таламус. У мышей линии ASC, предрасположенных к депрессивноподобному состоянию, также были уменьшены размеры промежуточного мозга (включая гипоталамус) и стриатума. Эмоциональный стресс вызвал каталепсию у некоторых мышей линии AKR и у 100% мышей каталептических линий. Вызванное стрессом повышение уровня кортикостерона было снижено, а метаболизм 5-HT (уровень основного

метаболита 5-ГИУК и соотношение 5-ГИУК/5-НТ) в среднем мозге был значительно увеличен на фоне стресса у мышей каталептических линий. Многофакторный анализ выявил взаимодействие между базальным уровнем и стресс-вызванными изменениями метаболизма 5-НТ в гиппокампе и среднем мозге, что предполагает взаимодействие между множественными изменениями серотониновой нейротрансмиссии в нескольких структурах мозга в регуляции наследственно обусловленной каталепсии. Исследование выявило ассоциацию между наследственно обусловленной каталепсией, нейроанатомическими характеристиками и нейрохимическим и гормональным ответом на эмоциональный стресс. Предрасположенные к каталепсии генотипы более чувствительны к стрессу, что предполагает их как адекватные модели для изучения генетической предрасположенности к стресс-вызванной нейропатологии. Найденные у мышей линии ASC нейроанатомические отклонения могут служить субстратом нарушений поведения депрессивноподобного характера, которые закрепились у этой линии в ходе селекции на каталепсию. Полученные данные подтверждают ассоциацию генетически обусловленной каталепсии с дисфункциями мозга нейродегенеративного характера.

#### ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА АНДРОГЕНОВОГО РЕЦЕПТОРА (AR) И АГРЕССИВНОЕ ПОВЕДЕНИЕ КАК ОТРАЖЕНИЕ ОСНОВНЫХ РАЗЛИЧИЙ В РЕПРОДУКТИВНЫХ СТРАТЕГИЯХ ДВУХ ВОСТОЧНОАФРИКАНСКИХ ПЛЕМЕН

*Лазебный О.Е.*<sup>\*</sup>, *Бутовская М.Л.*<sup>2</sup>, *Васильев В.А.*<sup>3</sup>, *Шибалев Д.В.*<sup>3</sup>, *Суходольская Е.М.*<sup>3</sup>, *Куликов А.М.*<sup>1</sup>, *Дронова Д.А.*<sup>2</sup>, *Рысков А.П.*<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биологии и развития им. Н.К. Кольцова РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт этнологии и антропологии им. Н.Н. Миклухо-Маклая РАН (Москва), Россия;

<sup>3</sup>ФГБУН Институт биологии гена РАН (Москва), Россия

\*e-mail: oelazebny@gmail.com

Взаимодействия генотипа и среды играют важную роль в проявлении агрессивного антисоциального поведения у людей. Ассоциации между количеством CAG повторов в гене AR и самооценкой по физической агрессии, гневу и враждебности, определяемых с помощью опросника Басса-Перри, были исследованы у мужчин из двух африканских племен с традиционной культурой, охотников-собирателей хадза и скотоводов датога, проживающих в Танзании. Объединенная выборка включала 342 взрослых мужчин, из них 204 хадза и 138 датога, при этом средний возраст составил  $33.6 \pm 11.0$  года. Исследованные популяции значительно отличались по распределению частот аллелей гена AR, различающихся по числу CAG-повторов, при этом хадза характеризовались меньшей изменчивостью. Методы дисперсионного анализа помогли выявить значимое влияние числа CAG-повторов и принадлежности к определенной этнопопуляции на физическую агрессию, гнев и враждебность: мужчины с меньшим количеством повторов CAG оценивали себя выше по всем трем признакам агрессивного поведения. Использование регрессионного анализа для выявления связи между полиморфизмом гена AR и агрессивным поведением позволили уточнить, что значимая отрицательная связь между исследуемым полиморфизмом и физической агрессией, гневом и враждебностью характерна только для мужчин датога. Эти результаты обсуждаются с точки зрения современных достижений генетики агрессивного поведения, а также различий в репродуктивных стратегиях мужчин из племен хадза и датога.

## НОКДАУН ГЕНА ИНСУЛИНОПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА В ЖЕЛЕЗЕ, СИНТЕЗИРУЮЩЕЙ ЮВЕНИЛЬНЫЙ ГОРМОН, ВЛИЯЕТ НА МЕТАБОЛИЗМ ГОРМОНОВ СТРЕССА И ПРИСПОСОБЛЕННОСТЬ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Раушенбах И.Ю., Адонова Н.В. \*, Андреевская О.В., Бурдина Е.В., Карпова Е.К., Фаддеева Н.В., Грунтенко Н.Е. ФГБНУ Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия

\*e-mail: nadon@bionet.nsc.ru

Гормоны стресса насекомых, ювенильный (ЮГ) и дофамин (ДА), играют ключевую роль в контроле приспособленности (плодовитости и стрессоустойчивости) самок дрозофилы. В настоящей работе исследуется роль сигнального пути инсулина/инсулиноподобных факторов роста (И/ИФР) в регуляции приспособленности и метаболизма ЮГ и ДА в нормальных условиях и при тепловом стрессе. Установлено, что подавление экспрессии гена инсулиноподобного рецептора (*InR*) в *corpus allatum* - специализированной эндокринной железе, синтезирующей ЮГ, вызывает у самок *Drosophila melanogaster*: (1) увеличение деградации ЮГ и уровня ДА, (2) снижение активности щелочной фосфатазы (ЩФ) - фермента, регулирующего пул предшественника ДА, тирозина, (3) снижение активности ключевого фермента синтеза ДА тирозингидроксилазы (ТГ), (4) снижение активности ДА-зависимой арилалкиламин-N-ацетилтрансферазы (ДАТ) - фермента, деградирующего ДА, и (5) резкое снижение плодовитости и устойчивости к тепловому стрессу. Обнаружено также, что подавление экспрессии *InR* в *corpus allatum* изменяет ответ ДА, ЩФ, ТГ и системы деградации ЮГ на действие стрессора. Аппликация экзогенного ЮГ самкам со сниженной экспрессией *InR* в *corpus allatum* восстанавливает все исследованные параметры до уровня характерного для контрольных мух. Полученные результаты демонстрируют, что у самок *D. melanogaster* сигнальный путь И/ИФР (1) регулирует метаболизм ДА опосредованно через систему метаболизма ЮГ, (2) влияет на развитие нейроэндокринной стресс-реакции, (3) взаимодействует с ЮГ в контроле приспособленности.

Работа поддержана грантами РФФИ №№ 12-04-00065, 13-04-00019 и Программы РАН №30 «Живая природа: современное состояние и проблемы развития» (№ 30/37).

## ПРОТЕОМНЫЕ МИКРОЧИПЫ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПРИ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ И ПОВРЕЖДАЮЩИХ ВОЗДЕЙСТВИЯХ

Узденский А. Б. \*, Демьяненко С. В.

Южный федеральный университет (Ростов-на-Дону), Россия

\*e-mail: auzd@yandex.ru

Эпигенетические процессы, включающие метилирование ДНК и изменения хроматина, играют важную роль в регуляции экспрессии генов. Мы использовали недавно разработанные протеомные микрочипы Panorama Antibody Microarray - Gene Regulation (Sigma-Aldrich) для изучения изменений экспрессии 112 белков, регулирующих эпигенетические процессы, при развитии меланомы кожи человека и при фотодинамическом воздействии на мозг крысы. В первом случае сравнивались ткани меланомы и нормальная кожа тех же пациентов, а во втором – ткань коры мозга крысы, подвергнутой фотодинамическому воздействию аминокислоты (ALA-PDT), с неповрежденной нервной тканью коры мозга. Наблюдаемые эпигенетические сдвиги в меланоме кожи включали изменения уровня белков, ведущие к подавлению транскрип-

ции: диметилирование гистона H3, гиперэкспрессию ДНК-метилсвязывающего белка Kaiso и гистондеацетилаз HDAC-1 и HDAC-11. Также повышалась экспрессия белков, контролируемых митоз (протеинкиназы R и Aurora B, центромерный белок CENP-E), участвующих в репарации ДНК (фосфорилированный гистон H2AX) и импорте белков в ядро (импортин  $\alpha 3$  и  $\alpha 5/7$ ). Одновременно снижались уровни белков HDAC-10 и PCNA. Это подтверждает важную роль разнообразных эпигенетических процессов в онкогенезе меланомы. В некоторой степени сходные эпигенетические процессы наблюдались в коре мозга крыс после ALA-PDT. В подавлении транскрипции участвовали диметилирование гистона H3, гиперэкспрессия Kaiso, HDAC-1 и HDAC-11, снижение уровней фактора транскрипции FOXO2 и белка PABP. Снижение уровня белка hBtm/hsnf2a также указывало на подавление транскрипции. Понижение экспрессии белка hABN1, деметилирующего митохондриальные ДНК и РНК, ингибирует транскрипцию и трансляцию в митохондриях. ALA-PDT снижало уровень белков MTA1/MTA1L1 и PML, участвующих в репарации двухцепочечных повреждений ДНК, хотя и повышало фосфорилирование гистона H2AX, инициирующее репарацию ДНК. Гиперэкспрессия белка PRMT5, метилирующего аргинин, регулирует сигналинг, процессинг РНК и пролиферацию. Также наблюдалось повышение уровня фактора транскрипции E2F4 и импортин  $\alpha 5/7$ . С другой стороны, гиперэкспрессия фактора транскрипции AP-1/c-Jun может привести к апоптозу. Итак, экспрессия белков, участвующих в эпигенетической регуляции, изменяется при онкотрансформации кожи и при повреждении нервной ткани. Работа выполнена при поддержке грантов Минобрнауки РФ и РФФИ.

## РОЛЬ ГЕНОВ РАННЕГО ОТВЕТА В ГОРМОНАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ТИРОЗИНГИДРОКСИЛАЗЫ МОЗГА

Калинина Т.С. \*,<sup>1,2</sup>, Сухарева Е.В. <sup>1</sup>, Ланшаков Д.А. <sup>1,2</sup>, Булыгина В.В. <sup>1</sup>, Дыгало Н.Н. <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>Новосибирский национальный исследовательский университет (Новосибирск), Россия

\*e-mail: kalin@bionet.nsc.ru

Долговременная глюкокортикоидная модификация норадренергической системы мозга зависит от генотипа животных. Введение гидрокортизона в последнюю треть внутриутробного развития повышает активность ключевого фермента синтеза катехоламинов – тирозингидроксилазы (ТГ) в отделах головного мозга взрослых серых крыс, селектированных на повышенную агрессивность по отношению к человеку, не оказывая влияния на активность фермента в мозге крыс «ручного» типа поведения. Одной из причин, определяющих чувствительность к программирующему действию гормона, могут являться особенности гормональной регуляции экспрессии гена ТГ в раннем онтогенезе у крыс разных линий. У агрессивной линии серых крыс, в отличие от ручной, глюкокортикоиды повышают активность ТГ в мозге плодов через 6-72 часа после введения. Промотор гена ТГ не имеет функционально-активных глюкокортикоид-отвечающих элементов, но содержит два AP-1 сайта, один из которых вовлечен в глюкокортикоидную индукцию гена в культуре феохромоцитомы. У крыс линии Вистар, для которых показана долговременная гормональная модификация медиаторной системы аналогичная линии агрессивных серых крыс, способность глюкокортикоидов индуцировать экспрессию гена ТГ коррелирует с 5-20-кратным превышением соотношения транскриптов Jun



(junB, junD, c-jun) к Fos (c-fos, FosB) в мозге плодов. Согласно современным представлениям, именно такое соотношение белков AP-1 комплекса, в соответствии с неканоническим механизмом действия глюкокортикоидов, обеспечивает гормональную индукцию зависимых генов. Установлено, что соотношение мРНК и белков семейств Jun к Fos в отделах головного мозга меняется в ходе перинатального онтогенеза. Только в периоды относительного преобладания белков семейства Jun, выявленные у крыс линии Вистар на 20-21-день эмбриогенеза и 3 день жизни в стволовых и передних отделах мозга, ген и белок ТГ индуцируются гормоном. Индукция ТГ сопровождается увеличением *in vitro* и *in vivo* активности фермента, а также повышением количества норадреналина. Изменение экспрессии гена ТГ в перинатальном онтогенезе вызывает долговременные отклонения в развитии медиаторной системы - приводит к активации норадренергической системы мозга взрослых животных, меняет профиль экспрессии нейрогенов при стрессе. Таким образом, чувствительность к гормональной модификации норадренергической системы мозга и регулируемых ею функций может определяться зависимыми от генотипа особенностями активации неканонического механизма действия глюкокортикоидов. Работа поддержана грантами РФФИ № 12-04-0106, 13-04-01104.

#### НЕЙРОГЕНЕТИКА И ФИЗИКА: КОНФОРМАЦИОННАЯ ДИНАМИКА ДНК У МУТАНТОВ С КОГНИТИВНЫМИ НАРУШЕНИЯМИ ЛОКУСА *AGNOSTIC* ДРОЗОФИЛЫ

*Федосеев А.¹, Захаров Г.А.², Журавлев А.В.², Медведева А.В.², Щеголев Б.Ф.², Лушиников С.Г.¹, Савватеева-Попова Е.В.\*²*

<sup>1</sup>Физико-технический институт им. А.Ф. Иоффе РАН (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: esavvateeva@mail.ru

Со времени создания хромосомной теории наследственности Т.Г. Морганом в 1914 г. и открытия двойной спирали ДНК Дж. Уотсоном и Ф. Криком в 1953 г. выяснено, что функции ДНК далеко не исчерпываются пассивным хранением генетической информации. Посредством динамических структурных переходов молекула ДНК изменяет свою доступность для белков, регулирующих экспрессию генов. Локальные изменения конформации ДНК (образование пузырей, шпилек и крестообразных структур) сопровождают транскрипцию, репарацию, репликацию и др. Эти конформационные превращения ДНК активно изучаются физическими методами, но поведение низкочастотной области колебательного спектра ДНК мало изучены. В настоящей работе представлены результаты первых исследований низкочастотной конформационной динамики ДНК (85 и 119 п.н.) методами бриллюэновского рассеяния света первого интрона гена *limk1* (ключевого фермента ремоделирования актина) *D. melanogaster*. Мутант локуса *agnostic agnts3* (GenBank, JX987487) несет в 1-ом интроне гена *limk1* А/Т-обогащенная вставку (28 п.н.), способную генерировать новую микро РНК, частично гомологичную *miR-1006*, проявляет высокую частоту амиллоидоподобных включений, резкие нарушения обучения и памяти, которые парадоксальным образом восстанавливаются до уровня дикого типа при воздействии 37°C (310 К). Расчеты возможных конформационных состояний показали существование локальных структур, эволюционирующих при изменении температуры отлично от дикого типа. Возможным механизмом аномалий может быть стекнинг взаимодействие и образование сетки взаимодействующих цепочек ДНК. При плавлении ДНК *agnts3* в 8 раз увеличивается экстинкция света,

что непосредственно связано со структурными превращениями в данной температурной области. Полученные результаты обсуждаются в рамках современных моделей конформационных превращений ДНК.

Работа поддержана грантом Российского Фонда Фундаментальных Исследований (№ 12-04-01737-а), Программами Президиума РАН (№ 7) и Управления научных исследований Санкт-Петербургского Государственного университета «Биомедицина и здоровье человека».

#### ФИЗИОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МУТАНТОВ С МОТОРНЫМИ НАРУШЕНИЯМИ У ДРОЗОФИЛЫ

*Брагина Ю.В.\*¹, Федотов С.А., Беседина Н.Г., Даниленкова Л.В., Камышева Е.А., Панова А.А., Камышев Н.Г.*

ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: julia\_bragina@mail.ru

Любые моторные функции (локомоция, дыхание, сердцебиение) осуществляются специальными нейронными сетями – центральными генераторами моторного паттерна (ЦГМП), которые функционируют под контролем высших отделов центральной нервной системы (ЦНС) и сенсорной обратной связи. Для выявления генов, участвующих в работе и управлении ЦГМП был проведен анализ параметров локомоторной активности и звукопродукции у более чем 400 Pdl-инсерционных аутосомных мутантов дрозофилы. Однонаправленный характер изменений у мутантов таких параметров локомоции и звукопродукции, как частота инициации и длительность моторного акта (находятся под контролем высших отделов ЦНС), предполагает наличие у них системных нарушений в работе ЦНС. В то же время параметры, которые характеризуют работу собственно ЦГМП – скорость побежки и межимпульсный интервал, – скорее всего, находятся под специфическим генетическим контролем. Проведенный скрининг позволил выявить для дальнейшего изучения наиболее интересных мутантов дрозофилы. Для большинства генов участие в контроле моторной активности показано впервые. У мутантов по генам *drl* и *jing* нарушения параметров моторной активности, вероятно, связаны со структурными нарушениями в мозге мух, на работу собственно ЦГМП эти гены влияния не оказывают. Для генов *CG34460* и *Sps2* влияние на моторные характеристики, скорее всего, связано с модификацией активности нейронных сетей в зависимости от факторов внешней среды. У мутантов по генам *Map205* и *wdr* наблюдаемые моторные отклонения, вероятно, связаны с нарушениями иннервации сенсорных органов и мышц и/или нарушениями регуляторных влияний ЦНС на исполнительные моторные системы. Ген *CG6746* предположительно осуществляет специфическое влияние на локомоторную активность за счет участия в сигнальных путях, регулирующих развитие и дифференциацию тканей (*Ras/MAPK* сигнальный путь), отклонения параметров локомоторной активности происходит предположительно из-за нарушения собственно паттерна шага. Ген *CG15630* является нейроспецифичным геном. Он осуществляет рецепцию сигналов в дифференцирующихся тканях и/или в соответствии с полученными сигналами осуществляет ремоделирование цитоскелета клетки. В наших экспериментах получены доказательства прямого участия продукта гена в молекулярных механизмах функционирования песенного ЦГМП.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ №13-04-12030-офи-м и №13-04-02153а, а также Программ Президиума РАН № 30 и № 7.

## ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В КУЛЬТУРЕ НЕЙРОБЛАСТНЫХ КЛЕТОК IMR-32 ПОД ДЕЙСТВИЕМ СЕЛАНКА И ОЛАНЗАПИНА

**Филатова Е.В.** <sup>\*1</sup>, **Коломин Т.А.** <sup>1</sup>, **Шадрина М.И.** <sup>1</sup>, **Рыбалкина Е.Ю.** <sup>2</sup>, **Павлова Г.В.** <sup>2</sup>, **Сломинский П.А.** <sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт молекулярной генетики РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт биологии гена РАН (Москва), Россия

\*e-mail: filatovaev@img.ras.ru

Исследование неизвестных ранее новых свойств лекарственных препаратов является актуальным направлением современной фармакологии. Среди прочих особый интерес представляют психотропные препараты. Селанк является относительно новым анксиолитическим препаратом, чьи свойства остаются до конца не изученными. Препарат Селанк (СЕЛективный АНК-сиолитик) обладает анксиолитическим, ноотропным и иммуномодулирующим действием. Синтетический аналог природного иммуномодулятора тафцина Селанк оказывает на организм воздействие, сходное с действием как классических анксиолитиков бензодиазепинового ряда, механизм действия которых связан с работой ГАМК-ергической системы, так и атипичных (таких как Оланзапин), действующих преимущественно на D<sub>2</sub>, 5-HT<sub>2</sub> и некоторые другие рецепторы. При этом Селанк не имеет характерных для них побочных эффектов. Это позволяет предположить, что в основе механизма действия Селанка лежит его способность модулировать работу нейротрансмиттеров на разных уровнях. Нами была проведена оценка действия Селанка, Оланзапина и ГАМК на экспрессию 84 генов, вовлеченных в нейрорецепцию и регуляцию работы ГАМК-, дофамин-, серотонинергической и других систем, связанных с передачей сигналов между нервными клетками, в культуре нейробластных клеток IMR-32. Наиболее сильные изменения в экспрессии генов наблюдались при одновременном воздействии на клетки Селанка и Оланзапина. Более того, было отмечено в основном однонаправленное изменение уровней транскриптов при сравнении действия одного Оланзапина и вместе с Селанком, при этом совместное действие обоих препаратов приводило к более выраженному изменению экспрессии. Интересно также, что действие Селанка на транскрипцию изученных генов само по себе в целом противоположно действию Оланзапина и заключается в снижении относительной экспрессии генов.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ СТРЕССА

**Дюзжикова Н.А.** <sup>\*</sup>, **Савенко Ю.Н.**, **Зачепило Т.Г.**, **Павлова М.Б.**, **Ширяева Н.В.**, **Скоморохова Е.Б.**, **Лопатина Н.Г.**, **Швецов А.В.**, **Вайдо А.И.**

ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН

(Санкт-Петербург), Россия

e-mail: dyuzhikova@mail.ru

В связи с возрастанием влияния экстремальных воздействий на организм человека особую актуальность приобретает исследование генетических и эпигенетических механизмов развития и сохранения стрессовых реакций с использованием моделирования подобных состояний у животных. На линиях крыс с генетически-детерминированными в результате длительной селекции различиями по уровню возбудимости нервной системы (модель влияния психоэмоционального стресса и формирования посттравматического стрессового расстройства) показано участие эпигенетических модификаций- метилирования ДНК, ацетилирования гистона H<sub>4</sub>, фосфорилирования и метилирования гистона H<sub>3</sub> по активаторным сайтам в реакции на эмоционально-болевого стресс. Динамика их изменения в нейронах зависит

от структуры мозга (префронтальная и сенсо-моторная зоны коры, гиппокамп, миндалина, средний мозг) и функционального состояния нервной системы животных. На модельном объекте-медоносной пчеле (*Apis mellifera* L.) показано участие фосфорилирования и метилирования гистона H<sub>3</sub> также в процессах обучения и памяти и их межполушарная асимметрия. Особый интерес представляет поиск генов-кандидатов, определяющих предрасположенность к развитию психопатологий и связанных с формированием реакции на стресс и изучение регуляции их экспрессии за счет активизации ретротранспозонов (LINE1 (L1) и эпигенетических изменений (метилирование ДНК). Ген *grin1* (glutamate receptor ionotropic, N-methyl-D-aspartate (NMDA) subtype, subunit 1) кодирует ключевую NR1 (NMDAR1) субъединицу N-methyl-D-aspartate (NMDA) рецептора, которому отводится особое значение в детерминации нейрональной возбудимости, синаптической пластичности, реакции на стресс, а также в патогенезе ряда нервно-психических заболеваний. Задача исследования- выявление сайтов внедрения ретротранспозона L1 и оценка статуса метилирования CpG островков в промоторе гена *grin1* зубчатой извилины гиппокампа и костного мозга в зависимости от функционального состояния нервной системы в условиях действия эмоционально-болевого стресса методами двухступенчатого ПЦР (подготовительный и направленный), бисульфитной модификации ДНК и метил-специфической амплификации с соответствующими праймерами. Оценен линейный полиморфизм геномного паттерна L1. В результате действия стресса выявлены инсерции ретротранспозона L1 в последовательность гена *grin1*, а также тканеспецифические особенности изменения паттерна метилирования исследуемого CpG островка в промоторной области гена *grin1*, зависящие от уровня возбудимости крыс исследуемых линий. Обсуждается значимость обнаруженных генетических и эпигенетических изменений для экспрессии генома в связи с функционированием мозга в норме и при развитии психопатологий и вклад индивидуальной изменчивости по возбудимости нервной системы в эти процессы.

## S6-01. РОЛЬ МОДИФИКАЦИИ ГИСТОНОВ В ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМАХ ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ (ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ)

**Гринкевич Л.Н.**

ФГБУН Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН

(Санкт-Петербург), Россия

e-mail: larisa\_gr\_spb@mail.ru

Актуальнейшей задачей нейробиологии является изучение механизмов формирования долговременной памяти и поиск путей ее улучшения. В последние годы в этой области наметился значительный прогресс, связанный с открытиями в области эпигенетики. Наибольший интерес исследователей прикован к ацетилированию и метилированию гистонов, так как их нарушение лежит в основе ряда патологий, сопровождающихся ментальными нарушениями. Показано, что ацетилирование гистонов приводит к активации экспрессии генов, вовлекаемых в формирование долговременной памяти, а метилирование как к активации, так и репрессии в зависимости от сайта метилирования. Известно, что способность к различным видам обучения созревает неравномерно в процессе развития. Поэтому онтогенетические исследования позволяют выявить ключевые звенья в формировании памяти. Существенную роль в исследовании молекулярных механизмов памяти играют животные с простыми нервными системами. Нами используется модель обучения – выработка условного рефлекса пищевой аверзии у моллюска *Helix*. Нами показано, что значительную роль в

формировании этого рефлекса у взрослых животных играет MAPK/ERK-зависимая индукция ацетилирования гистона H3, а также его метилирование, причем как по активаторному, так и ингибиторному сайтам. Тогда как у ювенильных животных с незрелыми механизмами формирования данного рефлекса нарушено и MAPK/ERK-индуцируемое ацетилирование гистона H3 и его метилирование по ингибиторному сайту. Предполагается, что одной из причин неспособности ювенильных животных к формированию данного вида долговременной памяти является незрелость серотонинэргической системы, играющей важнейшую роль в формировании оборонительных рефлексов. Так дисфункция серотонинэргической системы (на пре- или пост-синаптическом уровне) нарушает формирование оборонительных рефлексов у взрослых животных и как показано нами сопровождается нарушением MAPK/ERK-зависимой индукции ацетилирования и метилирования гистона H3. С другой стороны метилирование по ингибиторному сайту гистона H3 может отражать влияние процессов торможения, которые играют важную роль в формировании долговременной памяти и достаточно поздно созревают в онтогенезе. То есть эти процессы могут взаимодействовать на уровне гистонов. Нам удалось через индукцию ацетилирования введением ингибиторов гистондеацетилаз значительно улучшить формирование долговременной памяти у ювенильных животных и реверсировать ее у животных с дисфункцией серотонинэргической системы. В докладе будут также обсуждены современные данные о возможности применения ингибиторов гистондеацетилаз для коррекции ментальных нарушений связанных с эпигенетическим маркированием в том числе при старении, депрессивных расстройствах и инсультах.

Работа поддержана грантом РФФИ №11-04-01968.

#### С6-02. ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА *CSTB* В ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С СИМПТОМАТИЧЕСКОЙ ЭПИЛЕПСИЕЙ И БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА

*Белоцерковская Е.В.*<sup>\*1</sup>, *Сучкова И.О.*<sup>1</sup>, *Борисова Е.В.*<sup>2</sup>, *Боровкова Н.К.*<sup>2</sup>, *Рогозина А.А.*<sup>2</sup>, *Паткин Е.Л.*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Клиника ФГБУ «НИИЭМ» СЗО РАМН (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: kavattii@gmail.com.

Эпилепсия и болезнь Паркинсона (БП) – одни из самых распространенных неврологических заболеваний человека. На сегодняшний день актуален поиск биомаркеров этих заболеваний, позволяющих проводить диагностику на доступном биологическом материале, например, периферической венозной крови. В качестве такого молекулярного маркера может выступать ген *CSTB* (ID: 1476, 21q22.3), кодирующий белок цистатин В (стефин В), который является ингибитором цистеиновых протеаз. Точковые мутации в гене *CSTB* и экспансия вариабельного минисателлитного повтора в промоторе цистатина В являются основными причинами возникновения прогрессивной миоклонус эпилепсии типа Унферрихта-Лундборга (ЕРМ1). Показано, что при миоклонус эпилепсии регистрируется снижение уровня экспрессии *CSTB* в лимфоцитах. Важно отметить, что цистатин В также связан с патогенезом БП и болезни Альцгеймера. Для цистатина В характерно образование белковых агрегатов. Данный белок обнаруживается в амилоидных бляшках различного происхождения. В связи с вышесказанным целью данной работы являлся сравнительный анализ уровня экспрессии гена *CSTB* у пациентов с симптоматической эпилепсией, БП и здоровых людей. Уровень экспрессии *CSTB* определяли методом ПЦР «в реальном вре-

мени» у пациентов с эпилепсией (11 мужчин и 11 женщин), болезнью Паркинсона (9 мужчин и 10 женщин) и 32 здоровых добровольцев (21 женщин и 11 мужчин). Тотальную РНК экстрагировали из лейкоцитов периферической крови с помощью реагента «Trizol». ПЦР «в реальном времени» проводили на приборе CFX96 thermal cycler с использованием коммерческой смеси iQ™ SYBR® Green Supermix (Bio-Rad, США) и 0,88 мкМоль каждого из праймеров. Показатели экспрессии гена *CSTB* были нормализованы относительно референсных генов *ACTB* и *B2M*. Оценку достоверности различий нормализованной экспрессии *CSTB* между пациентами и контролем проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни. Были выявлены статистически значимые различия в уровне экспрессии *CSTB* при эпилепсии и БП как для женщин, так и для мужчин. Средние значения нормализованного уровня экспрессии для контрольной группы составили  $3,04 \pm 0,94$  для мужчин и  $4,44 \pm 1,23$  для женщин. Среди пациентов с эпилепсией эти показатели были  $0,89 \pm 0,10$  для мужчин и  $1,06 \pm 0,25$  для женщин, для пациентов с БП –  $0,95 \pm 0,27$  для мужчин и  $0,91 \pm 0,10$  для женщин. Следует отметить, что как при эпилепсии, так и при БП наблюдалось значительное понижение уровня экспрессии *CSTB* – в 3 раза для мужчин ( $p=0.05$ ) и в 4 раза для женщин ( $p=0.01$ ). Таким образом, впервые показано, что экспрессия гена *CSTB* в лейкоцитах периферической крови изменяется при симптоматической эпилепсии и БП. При этом наблюдаются различия в профилях экспрессии цистатина В в зависимости от пола. Полученные данные свидетельствуют об участии *CSTB* в патогенезе симптоматической эпилепсии и БП. Работа поддержана грантами Российского фонда фундаментальных исследований №10-04-00676-а, 11-04-00254-а.

#### С6-03. РОЛЬ ЩЕЛЕВЫХ КОНТАКТОВ В ГЕНЕТИЧЕСКИХ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМАХ НЕЙРОГЕНЕЗА КОРКОВЫХ КОЛОНОК

*Сухов А.Г.*

НИИ нейрокибернетики им. А.Б. Когана Южного федерального университета (Ростов-на-Дону), Россия

e-mail: w701@krinc.ru

Проведенные нами комплексные электронно-микроскопические, иммуногистохимические, нейрофизиологические и нейрохимические исследования щелевых контактов (ЩК) убедительно свидетельствуют о чрезвычайно важной их роли в структурно-функциональной организации и эндогенном геном-регулируемом ритмогенезе корковых нейронных колонок (Сухов соавт., 2011). По нашим данным ЩК присутствуют во всех слоях корковых колонок соматической коры крыс в зоне проекции вибрисс, где каждая вибрисса на уровне IV слоя имеет индивидуальное представительство в форме обособленной морфофункциональной группировки нейронов, так называемого бочонка или барреля (Сухов, 1992). При этом наибольшее количество дендро-дендритных электрических синапсов или ЩК наблюдается именно у звездчатых тормозных нейронов бочонков, потенциал-зависимые К, Са, На каналы которых способны к генерации эндогенного пейсмекерного ритмогенеза. Наличие межклеточных ЩК у нейронов одного бочонка является структурной основой электротонической синхронизации пейсмекерной активности отдельных клеток в общую ритмическую активность каждой отдельной колонки, которая блокировалась в наших опытах локальным введением блокатора ЩК – карбенкоколлона. По нашему мнению ритмическая активность является генетически заданным свойством всех живых клеток, в том числе, и у предшественников нервных и глиальных клеток на ранних стадиях эмбрионального развития, когда еще нет



клеточной дифференциации клеток и химических синапсов, а ЩК уже хорошо выражены. По литературным данным ЩК играют важную роль на всех стадиях эмбриогенеза, присутствуя уже на стадии фолликула для обмена различными сигнальными молекулами яйцеклетки с организмом матери. После оплодотворения яйцеклетки и начала ее деления ЩК выявлены на стадии появления 8 стволовых клеток, которые затем преобразуются в многоклеточную трехмерную структуру схемы тела зародыша. На стадии начала нейрогенеза коры ЩК выявляются на E8-E11 день внутриутробного развития для *Cx31*, на E12-E16 день для *Cx26*, *Cx43*, *Cx36*, и на E16-E19 день эмбрионального развития для *Cx43*, *Cx45*, *Cx36*. Ведущую роль в закладке корковых колонок играет радиальная глия, созревание которой начинается на 1-2 дня раньше, чем дифференцировка будущих нейронов. В постнатальном периоде наибольшее число разных ЩК наблюдается в первую неделю после рождения во время формирования бочонков, но только при поступлении к ним тактильной афферентации, что говорит об участии не только генетических, но и эпигенетических механизмов в их развитии.

#### **С6-04. ДОФАМИН РЕГУЛИРУЕТ ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ВЕНТРАЛЬНЫХ НЕФРОЦИТОВ ИМАГО *D. MELANOGASTER*: РОЛЬ Д1- И Д2-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ**

**Андреевская О.В.** \*, Карпова Е.К., Грунтенко Н.Е.  
ФГБУН Институт цитологии и генетики, СО РАН  
(Новосибирск), Россия  
\*e-mail: andreenk@bionet.nsc.ru

Вентральные нефроны, или гирляндовые клетки, являются дополнительными клетками открытой циркуляторной системы насекомых, удаляющими продукты жизнедеятельности из гемолимфы путем эндоцитоза. Недавно показано, что нефроны дрозофилы гомологичны подоцитам почек позвоночных и могут служить удобной моделью для исследования биологии подоцитов и заболеваний, связанных с подоцитами. Модулятором важнейших сосудистых и почечных функций млекопитающих является дофамин (ДА), действие которого опосредуется активными Д1-подобными и ингибирующими Д2-подобными рецепторами. Для исследования молекулярных механизмов регуляции дофамином функционирования нефроцитов *Drosophila* мы использовали линию *Aug21-Gal4/CyO::arm-GFP;UAS-RFP*, несущую драйвер *Aug21-Gal4*, который, как мы впервые показали, специфически экспрессируется в нефроцитах имаго дрозофилы. Осуществив иммуногистохимическое исследование нефроцитов *Drosophila* с использованием антител против Д1- и Д2-подобных рецепторов, мы впервые продемонстрировали наличие этих рецепторов (*DopR* и *DD2R*, соответственно) в нефроцитах имаго. Для выяснения роли *DD2R* в контроле функционирования нефроцитов *Drosophila* дофамином мы использовали линию *UAS-ds-DD2R;UAS-RFP*, несущую генетическую конструкцию - супрессор гена *DD2R*. При скрещивании этой линии с линией *Aug21-Gal4/CyO::arm-GFP* в поколении F<sub>1</sub> получаются особи *Aug21>;UAS-ds-DD2R;UAS-RFP*, у которых, как мы показали, экспрессия гена *DD2R* в нефроцитах снижена. Сравнив выживаемость самок *Aug21>;UAS-ds-DD2R;UAS-RFP* и их сиблингов *CyO::arm-GFP/UAS-ds-DD2R* с нормальным уровнем экспрессии гена *DD2R* при добавлении в питательную среду  $AgNO_3$ , мы обнаружили, что первые обладают повышенной устойчивостью к токсическому стрессу. Работа поддержана грантами РФФИ № 12-04-31893 мол-а и компании OPTEC (Zeiss) №2-23.

#### **С6-05. ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЛОКОМОТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ИМАГО В ИЗОГЕННЫХ ЛИНИЯХ *DROSOPHILA MELANOGASTER* С ЗАМЕЩЕННЫМИ ХРОМОСОМАМИ, ПОЛУЧЕННЫХ ОТ ВЫБОРОК ИЗ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ**

**Волкова Н.Е.** \*, Григорьев Д.С., Воробьева Л.И.  
Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина  
(Харьков), Украина  
\*e-mail: volkova\_natalya@bk.ru

Изучали локомоторную активность имаго *Drosophilamelanogaster* изогенных линий с замещенными хромосомами. В качестве исходного материала использовали аутбредные линии, полученные от выборок из природных популяций Пирятин и Одесса, которые контрастны по ряду показателей, характеризующих общую приспособленность (плодовитость, жизнеспособность, продолжительность жизни, некоторые компоненты полового поведения). Пирятин – относительно более приспособленная линия; Одесса – сравнительно менее приспособленная. Изогенизацию и замещение хромосом проводили при помощи стандартной схемы скрещиваний с использованием линий со сбалансированными летальными мутациями в хромосомах 1, 2 и 3 (Пасюкова, 1984; Ashburner, 2005). Всего было получено 5 изогенных линий с замещенными хромосомами: две изогенные линии, все хромосомы в которых представлены хромосомами из линии Пирятин (*Iso1* и *Iso2*); изогенная линия Пирятин с замещенной Y-хромосомой; изогенная линия Пирятин с замещенными хромосомами 2 и Y; изогенная линия Пирятин с замещенными хромосомами 3 и Y. Анализ локомоторной активности выявил существенные различия по данному показателю между самцами и самками в каждой из полученных линий. При этом самки разных линий по локомоторной активности между собой не различаются и не отличаются от самок исходной линии Пирятин. Самцы линий *Iso1* и *Iso2* контрастны по локомоторной активности. По сравнению с самцами исходной линии Пирятин, самцы *Iso1* - менее подвижны, а самцы *Iso2* - более подвижны. Самцы из всех линий с замещенными хромосомами по локомоторной активности между собой не различаются и при этом характеризуются средними значениями данного показателя по сравнению с обеими изогенными линиями. Анализ характера распределения признака у самок и самцов исходных и синтезированных линий (наличие отрицательного эксцесса, асимметричность кривых распределений) и отсутствие влияния замещений Y-хромосомы, хромосомы 2 и хромосомы 3 (по данным дисперсионного анализа) позволяет предположить, что исходные линии Пирятин и Одесса не различаются по аллельному составу аутосомных генов, контролирующих локомоторную активность. При этом линия Пирятин, вероятно, гетерозиготна по X-сцепленным рецессивным мутациям, влияющим на локомоторную активность особей. Авторы признательны д.б.н. Козерецкой И. А. (Киевский национальный университет имени Т. Г. Шевченко) за предоставленные выборки дрозофил из природных популяций Пирятин и Одесса.

#### **С6-06. ЭКСПАНСИЯ САГ-ПОВТОРОВ В ГЕНЕ *ATXN2* КАК УНИВЕРСАЛЬНЫЙ ФАКТОР РАЗВИТИЯ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ НЕЙРОДЕГЕНЕРАТИВНОЙ ПАТОЛОГИИ**

**Абрамцева Н.Ю.** \*, Степанова М.С., Мороз А.А., Федотова Е.Ю., Лысогогорская Е.В., Клюшников С.А., Иванова-Смоленская И.А., Иллариошкин С.Н.<sup>2</sup>  
ФГБУ Научный центр неврологии РАМН (Москва), Россия  
\*e-mail: nataabr@rambler.ru

Ген *ATXN2*, расположенный на хромосоме 12q24.1, представлен 30 экзонами и кодирует белок атаксин-2. Первый экзон

несет поли-CAG участок, подверженный динамическим мутациям. В норме число tandemных копий CAG-повторов варьирует от 14 до 28. «Полная» экспансия тринуклеотидных повторов (число CAG-копий 34–40) приводит к развитию спиноцереbellарной атаксии 2-го типа (СЦА2). «Промежуточный» интервал 28–33 повторов представляет собой «серую зону», которая в некоторых изученных популяциях ассоциирована с болезнью Паркинсона (БП) и боковым амиотрофическим склерозом (БАС). Цель нашего исследования – оценка вклада варибельного числа копий CAG-повторов в гене *ATXN2* в развитие СЦА2, БП и БАС в российской популяции. Проанализировано 445 образцов ДНК пациентов со спорадической формой БП, 200 образцов ДНК пациентов с БАС, 13 образцов ДНК пациентов с СЦА2 и 353 образца ДНК неврологически здоровых людей. Молекулярно-генетический скрининг проводили методами фрагментного анализа и прямого секвенирования (генетический анализатор ABI Prism 3130, Applied Biosystems). Анализ выборки больных СЦА2 во всех случаях показал гетерозиготное носительство «полной» мутации: нормальный вариант аллеля – 23 копии повторов, мутантный – 37, 38, 39, 40, 41, 42 либо 44 копии CAG-повторов (наиболее частый генотип – 23/41), при этом поли-CAG последовательность не прерывалась вставками других нуклеотидных триплетов. В выборке больных БП выявлено 18 случаев носительства «промежуточного» аллеля *ATXN* в гетерозиготном состоянии (4,04%;  $p=0,08$ , OR 2,43, 95% CI 0,90–6,94): нормальный аллель содержал 22, 23, 24 либо 26 повторов, мутантный – 28, 30 либо 32 повтора (88,89%, 5,56% и 5,56%, соответственно). В выборке пациентов, страдающих БАС, выявлено 11 случаев гетерозиготного носительства «промежуточного» аллеля (5,5%;  $p=0,026$ , OR 3,37, 95% CI 1,13–10,39): нормальный аллель был представлен 23 либо 24 CAG-триплетами, мутантный – 28, 30 либо 32 (63,6%, 18,2% и 18,2%, соответственно). Во всех случаях БП и БАС наблюдалось прерывание поли-CAG последовательности САА-вставками, которые располагались симметрично в позициях 9 и 14 участка экспансии. В контрольной группе было выявлено 6 случаев носительства мутации (1,6%). Таким образом, в российской популяции экспансия CAG-повторов в диапазоне от 28 до 32 tandemных копий вносит существенный вклад в развитие БАС и, в меньшей мере, БП.

**С6-07. СИСТЕМА ДЛЯ СОЗДАНИЯ КЛЕТОЧНЫХ МОДЕЛЕЙ ЗАБОЛЕВАНИЙ, СВЯЗАННЫХ С ЭКСПАНСИЕЙ ТРИНУКЛЕОТИДНЫХ ПОВТОРОВ**  
**Сорокин М.А.<sup>\*,1,2,3</sup>, Медведев С.П.<sup>1,2,3</sup>, Покушалов Е.А.<sup>2</sup>,**  
**Закрян С.М.<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ Новосибирский НИИ патологии кровообращения им. ак. Е.Н. Мешалкина (Новосибирск), Россия;

<sup>3</sup>ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск), Россия

\*e-mail: sorokin@bionet.nsc.ru

Болезнь Хантингтона и синдром ломкой X-хромосомы являются наследственными нейродегенеративными заболеваниями человека и вызываются экспансией tandemных тринуклеотидных повторов в генах *HTT* и *FMR1*, соответственно. Молекулярные механизмы патогенеза этих заболеваний, в частности причины избирательного поражения нейронов ядер полосатого тела, выяснены недостаточно. Большую роль в динамике развития обоих заболеваний играет генетический фон. При этом сравнение различных индивидуумов, как больных с больными, так и больных со здоровыми, способно приводить к ложным выводам. Методически правильным является подход по направленному внесению мутаций в культивируемые клетки человека для получения клеточных моделей. Исходные клетки, не несущие мутации, будут при этом являться идеальным негативным контролем. Использование плюрипотентных клеток и их последующая дифференцировка позволит изучить действие мутаций на различные типы клеток взрослого организма. Для проведения гомологичной рекомбинации были созданы донорные плазмидные конструкции, содержащие тракты тринуклеотидных повторов известной длины, фланкированные плечами гомологии к генам *HTT* или *FMR1*. Нарращивание тракта тринуклеотидных повторов, а также его объединение с плечами гомологии произведено путем последовательного Golden Gate клонирования, что позволило создать фрагмент донорной ДНК, не содержащий «швов» и других посторонних последовательностей. Для направленного повышения эффективности гомологичной рекомбинации в локусах генов *HTT* и *FMR1* человека были созданы искусственные нуклеазы и никазы системы CRISPR/Cas9, вносящие, соответственно двуцепочечные и одноцепочечные разрывы ДНК вблизи трактов тринуклеотидных повторов. Работу конструкций, экспрессирующих CRISPR-нуклеазы, проверили путем временной трансфекции их в клетки линии 293T. Из десяти нуклеаз восемь проявили способность направленно вносить двуцепочечные разрывы и могут быть использованы в дальнейшей работе.

# ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СЕЛЕКЦИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИЙ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ КОМПАНИИ ANALYTIKJENA ДЛЯ ПОИСКА РЕШЕНИЙ В ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ И В СЕЛЕКЦИИ: МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ

*Горелов П.В., Савицкая Ю.А.*

*АНО «Аналитика и высокие технологии» (Москва), Россия*

\*e-mail: gpv@awt.ru

Прогресс молекулярной генетики привел к развитию различных типов ДНК-маркеров. Их использование коренным образом изменило методы оценки генетического разнообразия, паспортизации и классификации сортов растений. С помощью молекулярных маркеров можно ускорить процесс селекции, сокращать площади, занятые селекционным материалом, достигать более высокой точности отбора, добиваться экономии трудовых и материальных ресурсов. Применение ДНК-маркеров выводит селекцию сельскохозяйственных растений на качественно новый уровень, позволяя оценивать генотипы напрямую, а не через фенотипические проявления, что, в конечном счете, реализуется в создании сортов и гибридов, обладающих комплексом ценных признаков, ускоренными темпами. Среди основных задач молекулярных маркеров хозяйственно ценных признаков растений и животных можно выделить следующие: определение молекулярных маркеров в идентификации генотипов растений и животных; ускорение селекции растений и животных при помощи молекулярных маркеров; контроль качества продукции растениеводства и животноводства с использованием молекулярных маркеров; разработка новых технологий по созданию ДНК-маркеров. Все эти задачи могут быть принципиально решены благодаря использованию в научно-практических исследованиях оборудования компании Analytik Jena.

Analytik Jena – ведущая немецкая компания, специализирующаяся в области производства высокоточного аналитического оборудования для проведения физико-химических исследований в научных и производственных лабораториях. Главная цель компании Analytik Jena – создавать аналитические приборы, которые отличаются: наилучшим качеством, высокой точностью, инновационностью, долговечностью. Сочетание проверенных технологий Карл Цейс с современными инновационными решениями позволило Analytik Jena стать одной из самых известных компаний в мире и занять лидирующие позиции в области производства высокоэффективных аналитических технологий. Компания Analytik Jena один из пионеров ПЦР-технологий, занимается разработкой и производством инновационных технологий термоциклирования, электрофореза, блоттинга, гель-документирования и гибридизации. Analytik Jena производит компактные высокочувствительные анализаторы для исследования ДНК/РНК, проведения ПЦР-диагностики и молекулярной диагностики в области биохимии и биотехнологий. Analytik Jena ведет постоянную работу по усовершенствованию точности и экспрессности

методов анализа. Analytik Jena запустила в производство новые продукты для проведения ПЦР-диагностики в реальном времени – qTOWER и TOptical. Необходимо отметить, что Analytik Jena – это одна из немногих компаний в мире, способных решать задачи как по поставке отдельных приборов, так и комплексному проектированию лабораторий с оснащением их “под ключ”. Безупречное качество оборудования, широкий ассортимент дополнительных принадлежностей для приборов, оперативное сервисное обслуживание обеспечивают то, что Analytik Jena является безусловным лидером в мире в сфере генотипирования, SNP, ДНК-чипирования, генетических заболеваний экспресс методами, маркерной селекции (MAS-селекция) и молекулярной спектроскопии.

## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИНЖЕНЕРИЯ: ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ

*Щелкунов С.Н. \*<sup>1,2</sup>*

*<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия;*

*<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет (Новосибирск), Россия*

\*e-mail: snshchel@rambler.ru

Обзорный доклад, в котором освещены основные этапы 40-летней истории развития генетической инженерии. Отмечено, что генноинженерные исследования внесли уникальный вклад в изучение структурно-функциональной организации геномов различных организмов, включая геном человека. Дан анализ подходов к клонированию и экспрессии чужеродных генов в клетках бактерий, дрожжей, растений, насекомых и млекопитающих. Рассмотрены достижения генетической инженерии в создании продуцентов природных и искусственных белков, современных безопасных вакцин, в получении трансгенных животных и растений. Обращено внимание на то, что методы генетической инженерии проникли практически во все области исследований современной генетики и явились основой для возникновения новых направлений биологической науки, включая синтетическую биологию.

## ИССЛЕДОВАНИЯ ГИГАНТСКИХ ЭВОЛЮЦИОННО ДРЕВНИХ ГЕНОМОВ ХВОЙНЫХ: ПОПУЛЯЦИОННАЯ, ЛАНДШАФТНАЯ И ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ГЕНОМИКА И ГЕНОМНАЯ СЕЛЕКЦИЯ

*Крутовский К.В. <sup>1,2,3,4</sup>*

*<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия;*

*<sup>2</sup>Гёттингенский университет (Гёттинген), Германия;*

*<sup>3</sup>Лаборатория лесной геномики и Научно-образовательный*



центр геномных исследований Сибирского федерального университета (Красноярск), Россия;

<sup>4</sup>Техасский агро-механический университет

(Колледж-Стейшн), США

e-mail: kkrutovsky@gmail.com

Хвойные - наиболее многочисленный из всех голосеменных растений подкласс (Pinidae), широко распространённый практически по всему миру и включающий 6 семейств, 67 родов и 616 видов (<http://www.conifers.org/zz/gymnosperms.php>), к которым относятся такие широко распространённые в России виды, как сосны, ели, пихты и лиственницы. Хвойные появились более 300 млн лет назад и являются одними из наиболее эволюционно-древних растений на земле. Им принадлежит большинство биологических мировых рекордов: самые высокие организмы в мире - секвойи (*Sequoia sempervirens*), достигающие в высоту более 110 м; самые крупные - секвойядендроны (*Sequoiadendron giganteum*), весящие до 1400 тонн; самые долгоживущие - сосна остистая или долговечная (*Pinus longaeva*), живущая более 5 тыс. лет. Интригующим является загадка громадного и не связанного с недавней полиплоидизацией размера генома хвойных, который, например, у сосен, в 7-9 раз превышает геном человека. Хвойные леса составляют основу бореальных экосистем, и имеют не только колоссальное экономическое значение, но также огромное локальное и глобальное влияние на экологию и климат, и играют ведущую роль в кругообороте углерода. Все это обуславливает важность генетических и геномных исследований хвойных. В последнее время благодаря новым высокопроизводительным методам секвенирования и генотипирования появилась возможность исследовать популяционные выборки по большому числу генов. В докладе будут представлены данные автора по полногеномному генотипированию ладанной сосны (*Pinus taeda*) – основного источника древесины в мире – около 5000 генов в 1700 деревьев в рамках проекта CTGN (<http://dendrome.ucdavis.edu/ctgn>) и около 35000 генов в 400 деревьев в рамках проекта PINEMAP (<http://pinemap.org>), проводимых с целью поиска генов, контролируемых изменчивость важных хозяйственных и адаптивных признаков и связанных с адаптацией к средовым факторам, для дальнейшего их использования в геномной селекции и получения генетически улучшенных сортов деревьев, устойчивых к неблагоприятным факторам среды. Будут представлены также геномные исследования хвойных видов деревьев, проводимые в Сибирском федеральном университете, в том числе, в рамках проекта «Геномные исследования основных бореальных лесообразующих хвойных видов и их наиболее опасных патогенов в Российской Федерации», получившего недавно федеральный мегагрант.

## ПРИМЕНЕНИЕ ГЕНОМНОЙ СЕЛЕКЦИИ В МОЛОЧНОМ ЖИВОТНОВОДСТВЕ:

### УСПЕХИ И ПРОБЛЕМЫ

**Юдин Н.С.**

ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН

(Новосибирск), Россия

e-mail: yudin@bionet.nsc.ru

ДНК-маркеры уже в течение многих лет применяются для предсказания племенных оценок в животноводстве. Они эффективны для случаев, когда известны полиморфные варианты, непосредственно определяющие вариабельность количественного признака (causative polymorphism), или тесно сцепленные с ними полиморфные варианты. Геномная селекция (ГС) стала возможной благодаря методологии, которая использует плотное покрытие маркерами всего генома, так что большая часть генетической дисперсии признака контролируется благодаря их неравновесию по сцеплению (LD) с полиморфными вариан-

тами, непосредственно определяющими изменение фенотипа, а также благодаря разработке методов для генотипирования большого числа однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП). При ГС оценивается эффект каждого генетического маркера, независимо от его статистической значимости, посредством вычисления его аддитивного вклада в величину интересующего признака на обучающей (референсной) выборке. Если эффекты отдельных ОНП распределены нормально, то для их оценки применяются наилучшую линейную несмещённую прогнозирующую функцию (BLUP). При этом эффекты ОНП могут быть бесконечно малыми, но ненулевыми. Другие статистические методы предполагают, что многие ОНП могут иметь нулевой эффект. Наибольшую выгоду ГС даёт при селекции по признакам, которые не регистрируют у селекционных кандидатов перед тем, как они достигнут минимального возраста для размножения. Это признаки, регистрируемые только у одного пола (надой), в позднем возрасте (продолжительность жизни), после смерти (нежность мяса), в условиях, отличных от тех, в которых содержатся животные (устойчивость к заболеваниям), признаки которые сложно измерять (потребление пищи) и т.д. Для ГС необходимо наличие обучающей выборки, в которой все животные генотипированы по десяткам тысяч ОНП и у них измеряется интересующий признак. Точность племенных оценок зависит от пропорции генетической дисперсии, отслеживаемой маркерами, и точности оценки эффектов маркеров. Первая зависит от LD между полиморфными вариантами, непосредственно определяющими изменение фенотипа и маркерами, то есть от плотности маркеров в геноме. Вторая зависит от числа животных в обучающей выборке, коэффициента наследуемости признака, размера генома, эффективного размера популяции  $N_e$ , родственных взаимоотношений между животными в обучающей выборке и селекционными кандидатами, числа контролируемых признаков локусов (QTL) и используемого для племенной оценки статистического метода. Геномная селекция применяется в молочном животноводстве с 2009 г. и в этом направлении уже накоплен значительный положительный опыт. Залогом успешного применения ГС именно в молочном животноводстве стало: 1) наличие родословных и данных учёта хозяйственно-важных признаков, накопленных в течение десятилетий; 2) возможность использования больших обучающих выборок; 3) производство чипов для генотипирования от 3 до 800 тысяч ОНП в геноме крупного рогатого скота; 4) высокая точность и экономическая эффективность геномных племенных оценок (традиционную племенную оценку бычка получают по надоям дочерей, т.е. через 5 лет после рождения); 5) возможность резкого ускорения селекционного процесса за счёт сокращения времени между поколениями (технология МОЕТ и др.).

## СОВРЕМЕННАЯ СЕЛЕКЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ.

### ЦЕЛИ И МЕТОДЫ

**Дебабов В.Г.**

ФГУП «ГосНИИгенетика» (Москва), Россия

e-mail: debabov@genetika.ru

Остаются актуальными традиционные задачи создания штаммов-продуцентов для микробиологического производства аминокислот, ферментов, антибиотиков, но спектр продуктов расширяется, захватывая такие области, как биотопливо и производство базовых химикалиев и биополимеров. Не решённой до конца проблемой является переход микробиологической промышленности на такое сырьё, как гидролизаты лигноцеллюлозы (смесь гексоз и пептоз). Новой проблемой является адаптация микроорганизмов к росту на газообразных субстратах (синтез-газ, водород + CO<sub>2</sub> или CO + CO<sub>2</sub>). Современные штаммы для

производства химикалиев или аминокислот должны обладать высокой скоростью биосинтеза (3-5 г/л/час), высокой конечной концентрацией (100-200 г/л) и высокой (более 50%) конверсией (г/г). Создание современных штаммов, как правило – это комбинация методов классической селекции (лабораторной эволюции) и метаболической инженерии с постепенным увеличением доли последней. К современным штаммам предъявляются повышенные гигиенические требования: отсутствие генов устойчивости к антибиотикам; отсутствие конъюгативных плазмид. Технические требования стабильности и продуктивности штаммов диктуют отказ от плазмид вообще, с предпочтительной интеграцией генов в хромосомы и использование регулируемой системы транскрипции и трансляции ключевых генов. Разработана методология точной интеграции или делеции целых генов или их частей в хромосомы, основанная на знании полных геномных последовательностей, синтезе олигонуклеотидов, ПЦР-реакции и механизмах сайт-специфической и гомологичной рекомбинации. Источником нужных генов сегодня служат не только коллекционные штаммы, но и метагеномные ДНК, включая ДНК, не культивируемых организмов. Важным элементом метаболической инженерии является измерение метаболических потоков углерода и построение моделей функционирования биохимических путей микробной клетки.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ СЕЛЕКЦИИ СОРТОВ ДВУРУЧЕК ПШЕНИЦЫ

*Филобок В.А.<sup>1</sup>, Беспалова Л.А.\*<sup>1</sup>, Гуенкова Е.А.<sup>1</sup>, Кошкин В.А.<sup>2</sup>, Потоккина Е.К.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>ГНУ Краснодарский НИИСХ Россельхозакадемии (Краснодар), Россия;

<sup>2</sup>ГНУ ВИР Россельхозакадемии (Санкт-Петербург), Россия  
\*e-mail: bespalova\_1\_a@rambler.ru

В Краснодарском НИИСХ им. П.П.Лукияненко созданы сорта мягкой пшеницы альтернативного образа жизни, которые используются в производстве в качестве страховых. Первый сорт Ласточка, внесенный в Госреестр селекционных достижений РФ в 2005 году, имел недостаточно высокую зимостойкость и в суровые зимы подмерзал, несмотря на высокую фотопериодическую чувствительность. Сорт Афина по зимостойкости приближается к среднестойкому сорту Безостая 1. У третьего сорта Паллада морозостойкость еще несколько увеличена, несмотря на слабую фотопериодическую чувствительность. Новый сорт Анка, проходящий госсортоиспытание с 2013 года, сочетает высокую фоточувствительность с морозостойкостью на уровне Безостой 1, что повысило его зимостойкость. Новый этап в селекции двуручек начался с создания сорта Велена. Он отличается стабильно высокой продуктивностью в разные сроки осеннего и весеннего посевов и способен формировать урожайность превышающую 10т с 1га. Эффективность селекционной работы по созданию сортов двуручек в значительной степени определяется целенаправленным формированием гибридных популяций с использованием специальных фонов для естественного и искусственного отбора, а также генотипирования селекционного материала по генам *Vrn* и *Ppd* и фенотипирования по реакции на фотопериод и яровизацию. Проверка потребности в яровизации и отзывчивости на фотопериод проводится нами как в естественных условиях в разные сроки посева в Краснодаре, так и в вегетационных опытах ВНИИР им. Н.Н.Вавилова. Предварительная яровизация двуручек ускорила их развитие от 14,4 до 21,6 суток по сравнению с контролем (без яровизации) в условиях длинного дня, и еще более значительно от 19,1 до 39,9 суток при коротком фотопериоде. По потребности в яровизации существенной разницы меж-

ду изучаемыми двуручками не выявлено. Наибольшей фоточувствительностью обладают сорта Ласточка и Анка, период всходы-колошение при коротком дне у них задерживается на 32,9-39,9 суток. С помощью молекулярного маркирования аллелей генов *Ppd-D1* и *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1* установлены генотипы сортов: Ласточка *R-RDD*, Афина *D-RRD*, Паллада *D-RDR*, Анка *R-RDD*, Велена *D-RRD*, где R-рецессивный аллель, D- доминантный.

## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ЗАЩИТА ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР ОТ БОЛЕЗНЕЙ: ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

*Афанасенко О.С.*

ГНУ Всероссийский НИИ защиты растений Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, Россия,

e-mail: olga.s.afan@gmail.com

Болезни растений ежегодно уносят 20-30% урожая. Генетическая защита растений от болезней обеспечивает не только сохранение урожая и ресурсосбережение, но и получение экологически чистой сельскохозяйственной продукции, и сохранение окружающей среды. Для обоснования стратегий генетической защиты конкретных культур необходимы исследования, как эволюционного потенциала возбудителей болезней, так и генетического разнообразия устойчивости. Показательным примером необходимости наличия запаса генов устойчивости, является появление в Уганде в 1999 г. расы стеблевой ржавчины Ug99. Эта раса «преодолела» широко используемый в мире, в том числе и в российской селекции ген длительной устойчивости пшеницы *Sr31*, локализованный в транслокации 1BL.1RS от ржи. Только благодаря интенсификации работ мировым научным сообществом по выявлению и использованию в селекции генов эффективных против данной расы и их молекулярных маркеров, на данный момент, удалось предотвратить ее распространение, поставив заслон из генетически защищенных сортов на территории предполагаемой миграции. Развитие новых технологий картирования и секвенирования генетических детерминант устойчивости растений к болезням открыло новые перспективы для генетической защиты сельскохозяйственных культур от болезней. Интенсивные исследования зарубежных научных коллективов по выявлению генетического разнообразия устойчивости основных сельскохозяйственных культур к болезням и молекулярное маркирование локусов качественных и количественных признаков позволило к настоящему времени обеспечить селекцию генетически разнородными донорами устойчивости, значительно сократить процесс введения новых генов в перспективный селекционный материал, охарактеризовать ценность для селекции отдельных QTL и их комбинаций. Наибольший прогресс достигнут в разработке молекулярных маркеров (ММ) для QTL, контролирующих устойчивость злаковых к облигатным паразитам, таким как виды ржавчины и мучнистая роса, а также к наиболее вредоносным болезням, вызываемым гембиотрофными патогенами – фузариоза колоса и септориоза пшеницы, сетчатой и темно-бурой пятнистостей ячменя, пирикулярноза риса. В ВИЗР такие исследования были инициированы в отношении доноров устойчивости ячменя к гембиотрофным патогенам. Особый интерес представляют исследования по определению ММ у доноров устойчивости, эффективных в определенных агроклиматических зонах. Современное состояние исследований можно охарактеризовать как накопление фундаментальных знаний по генетическому разнообразию устойчивости, структурной и функциональной организации генетических детерминант устойчивости растений и вирулентности патогенов. Работа поддержана грантом РФФИ № 14-04-00400.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К СОЗДАНИЮ НОВЫХ ГЕНОТИПОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Першина Л.А. <sup>\*1,2</sup>, Девяткина Э.П. <sup>1</sup>, Белан И.А. <sup>3</sup>,  
Росеева Л.П. <sup>3</sup>, Трубачева Н.В. <sup>1</sup>, Осадчая Т.С. <sup>1</sup>,  
Белова Л.И. <sup>1</sup>, Кравцова Л.А. <sup>1</sup>, Шумный В.К. <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН  
(Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>Новосибирский национальный исследовательский университет  
(Новосибирск), Россия;

<sup>3</sup>Сибирский НИИ сельского хозяйства Россельхозакадемии  
(Омск), Россия

\*e-mail: pershina@bionet.nsc.ru

Виды ячменя рассматриваются в качестве источников новых генов для увеличения генетического разнообразия культурных видов пшеницы. С этой целью наиболее успешно используется дикорастущий вид ячменя *H. chilense* Roemer & Schultes (2n=14). Что касается других видов *Hordeum* L., то при их скрещивании с пшеницей, как и при восстановлении фертильности у гибридов, проявляется сильно выраженная несовместимость. В наших работах был разработан комплекс методов культивирования *in vitro*, который с учетом генотипических особенностей ячменя и мягкой пшеницы был применен для преодоления несовместимости при получении ячменно-пшеничных гибридов, восстановлении фертильности при беккроссировании гибридов мягкой пшеницей, а у отдельных ячменно-пшеничных комбинаций – и при получении амфиплоидов. Создано разнообразие аллоплазматических рекомбинантных линий мягкой пшеницы *H. vulgare*-(*T.aestivum*), аллоплазматических рекомбинантных и интрогрессивных линий *H. marinum* ssp. *gussoneanum*-(*T.aestivum*), включенных в качестве экспериментальных моделей в генетические исследования. Полученные данные указывают на то, что при образовании аллоплазматических линий происходит формирование новой генотипической среды мягкой пшеницы. Показано, что включение созданных аллоплазматических линий в гибридизацию с другими генотипами мягкой пшеницы может приводить к образованию гибридов с проявлением гетерозиса по комплексу хозяйственно-важных признаков. Ряд аллоплазматических рекомбинантных и интрогрессивных линий, а также аллоплазматических гомозиготных линий, полученных в результате культивирования пыльников *in vitro*, включены в селекционную программу. Из гибридной популяции, полученной от скрещивания одной из гомозиготных аллоплазматических линий *H. vulgare*-(*T.aestivum*) с линией Com 37 (СИММИТ, Мексика), выделены перспективные формы, которые проходят испытания в селекционных питомниках. Одна из таких форм, характеризующаяся высокой полевой устойчивостью к ржавчинным патогенам, повышенной урожайностью, высокими показателями качества зерна, передана на Государственное сортоиспытание в качестве сорта Сигма. Проводится работа по пирамидированию генов, ответственных за устойчивость к стрессовым факторам, на генотипической среде аллоплазматических линий *H. vulgare*-(*T.aestivum*) и *H. marinum* ssp. *gussoneanum*-(*T.aestivum*) с предварительным получением гомозиготных линий на основе культивирования пыльников исходных и гибридных линий.

## PLANT GENETIC RESOURCES - THE BASIS FOR BREEDING AND RESEARCH

Börner A. <sup>\*1</sup>, Khlestkina E.K. <sup>2</sup>, Nagel M. <sup>1</sup>, Rehman Arif M.A. <sup>1</sup>,  
Allam M. <sup>1</sup>, Agacka M. <sup>3</sup>, Doroszewska T. <sup>3</sup>, Neumann K. <sup>1</sup>,  
Lohwasser U. <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research  
(IPK Gatersleben), Germany;

<sup>2</sup>Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences (Novosibirsk), Russia;

<sup>3</sup>Institute of Soil Science and Plant Cultivation, State Research Institute (Pulawy), Poland

\*e-mail: boerner@ipk-gatersleben.de

Plant genetic resources play a major role for global food security. The most significant and widespread mean of conserving plant genetic resources is *ex situ* conservation. Most conserved accessions are kept in specialized facilities known as genebanks maintained by public or private institutions. World-wide 7.4 million accessions are stored in about 1,500 *ex situ* genebanks. One of the ten largest *ex situ* collections of our globe is located at the Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK) in Gatersleben, Germany, conserving about 150,000 accessions from 3,212 plant species and 776 genera comprising wild and primitive forms, landraces as well as old and more recent cultivars. Since the majority of genebank holdings globally are stored as seed, seed storability is of exceptional importance for germplasm conservation. At IPK research on seed longevity was initiated for a range of crops stored over decades. Variation between and within crop species was detected and genetic analyses were initiated using long term stored and experimental aged materials. Results obtained for wheat, barley, oilseed rape and tobacco will be presented. Beside an accurate preservation of the germplasm the evaluation of the collections is a very important task for further utilisation. It is the prerequisite for the identification of genes to be used in breeding programmes for crop improvement. Classical bi-parental genetic analyses were performed. Own examples are presented here. However, an efficient exploitation of the germplasm collections is often hampered by the huge numbers of accessions stored in the seedbanks. Therefore, core collections representing the genetic variation of the whole set were created. Applying a genome wide association mapping analysis such core collections can be exploited genetically. The utilisation of such an approach for unlocking the genetic diversity 'sleeping' in genebanks are discussed.

## ИННОВАЦИОННЫЕ РАЗРАБОТКИ КОМПАНИИ CONVIRON В ОБЛАСТИ ТЕХНОЛОГИИ СОЗДАНИЯ ИСКУССТВЕННОГО КЛИМАТА

Савицкая Ю.А. <sup>\*</sup>, Вахрушин Е.В.

АНО «Аналитика и высокие технологии» (Москва), Россия

\*e-mail: sya@awt.ru

Сегодня перед генетиками и селекционерами стоят актуальные задачи изучения наследований и проявления перенесенных генов в поколениях трансгенных растений, оценки их засухо- и солеустойчивости, устойчивости к гербицидам и вирусам, разработки технологий для повышения урожайности и обогащения питательными веществами сельскохозяйственных культур, которые растут в сложных условиях. В этой сфере предстоит решать качественно новые задачи и поэтому становится очевидной необходимость точного моделирования условий окружающей среды с использованием камер искусственного климата, которые, в свою очередь, являются уникальным комплексом, разработанным для решения широкого спектра научно-исследовательских работ в области генетической инженерии растений, генетики и селекции растений, биобезопасности и т.д. Научно-технические достижения компании Conviron значительно расширили рамки человеческих возможностей в области создания искусственного климата. Компания Conviron является мировым лидером в области проектирования, изготовления и монтажа высокотехнологичных систем с управляемой средой. Благодаря своим широким возможностям камеры искусственного климата компании Conviron являются идеальной



базой для научно-исследовательской работы. Применение технологий, разработанных компанией Conviron, открывает перспективы широкомасштабного анализа процессов в генетике и селекции. В основе концепции технологии компании Conviron по имитации климатических условий лежит принцип чрезвычайно простого управления общими функциями камер искусственного климата в сочетании с высокой надежностью и максимальной эффективностью. Камеры искусственного климата компании Conviron отличаются высокой точностью поддержания значений температуры и влажности в объеме и по времени. Благодаря тому, что весь процесс разработки и изготовления камер искусственного климата происходит внутри предприятия компании Conviron, пользователи имеют широкие возможности для принятия эффективных и гибких решений. В течение своей 50-летней истории компания Conviron разработала и ввела в эксплуатацию множество успешных проектов, среди которых, есть как маленькие стартапы, так и крупные проекты в престижных научно-исследовательских институтах. Важно отметить, что для исследователей компания Conviron является намного больше, чем просто поставщик оборудования, она - близкий партнер не только во время этапа разработки проекта, но и в течение всего его развития. На сегодняшний день свыше 200 научных публикаций в год выходит только в рамках одного научного проекта, реализованного в Университете Шеффилда с использованием климатических камер компании Conviron. Сейчас большое внимание уделяется инновационным аспектам новых научно-исследовательских проектов совместно с Центром растений Дональда Данфорда, Калифорнийским Университетом, Университетом Шеффилда, Кембриджским Университетом, Организацией научных и промышленных исследований, Новозеландским Биотроном. Мы уверены, что совместное сотрудничество с компанией Conviron на всех этапах реализации Вашего проекта, начиная с самого первого момента обсуждения его видения и до завершения, в итоге принесет блестящие результаты для науки.

#### МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЦИТОГЕНЕТИКА В ИНТЕГРАЦИИ ГЕНОМНЫХ ДАННЫХ

**Карлов Г.И.\***, Дивашук М.Г., Александров О.С., Разумова О.В., Кхуат Тху Май Л.

Центр молекулярной биотехнологии Российского государственного аграрного университета - МСХА

им. К.А. Тимирязева (Москва), Россия

\*e-mail: karlovvg@gmail.com

С развитием методов высокопроизводительного секвенирования стало возможным расшифровать в черновом варианте геномы мало изученных в молекулярно-генетическом плане растений. Такие черновые варианты представляет собой лишь набор слабо охарактеризованных последовательностей ДНК несколько раз перекрывающих геном изучаемого объекта. Несмотря на это, наличие такой информации позволяет охарактеризовать некоторые важные гены, пути биосинтеза экономически важных метаболитов, получить общие данные о структуре генома в целом и дает импульс для дальнейшего более глубокого анализа геномов. Молекулярная цитогенетика является мощным инструментом для картирования генома и интеграции геномных данных. В нашей работе рассматриваются возможности молекулярной цитогенетики на примере анализа черновых вариантов геномов растений, представителей различных семейств, значительно различающихся по размерам геномов. Использование этих данных позволило выявить и цитогенетически охарактеризовать половые хромосомы двудомного растения *Cannabis sativa* с XY системой определения пола, интегрировать геномные данные в кариотип *Ricinus communis* и установить сиквенсы формирующие консти-

тутивный гетерохроматин, выявить особенности организации геномов некоторых представителей трибы Пшеницевых (*Triticeae* Dumort.), установить их субгеномный состав и возможные пути их эволюции.

#### ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ НАКОПЛЕНИЯ КАРОТИНОИДОВ У ФОРМ ТОМАТА С РАЗЛИЧНОЙ КОМБИНАЦИЕЙ ГЕНОВ КАЧЕСТВА

**Бабак О.Г.\***, Аджиева В.Ф., Некрашевич Н.А., Кильчевский А.В.

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (Минск),

Республика Беларусь

\*e-mail: babak\_olga@mail.ru ; O.Babak@igc.bas-net.by

Создание гибридов с высоким качеством плодов, включающим повышенное содержание каротиноидов и удлиненный период сохранности, является одним из актуальнейших направлений селекции томата. Ранее нами разработаны методики ДНК-типирования генов качества плодов *nor*, *rin*, *alc* (удлиненный период сохранности), *og*, *Del*, *r*, *hp-1*, *hp-2dg*, *B* из *S.pennellii*, *ogc*, *t*, *gf-3* (повышенное содержание каротиноидов) и генов устойчивости к кладоспориозу (*cf-2 cf-5*), фузариозу (*I-2*), мелойдогинозу (*Mi-1.2*). Проведена оценка селекционного материала по отдельным генам, создан ряд гибридов F<sub>1</sub>, сочетающих аллели изучаемых генов. В поколении F<sub>2</sub> отобраны формы с использованием фрагментного анализа флуоресцентно-меченых ПЦР-фрагментов на автоматическом секвенаторе Applied Biosystems Genetic Analyzer 3500 с интересующими комбинациями аллелей. Целью данных исследований являлось изучение накопления каротиноидов в плодах томата в зависимости от сочетания генов качества. Материалом для исследования были формы со следующими комбинациями генов качества плодов: двойные гомозиготы *nor/nor//ogc/ogc*, *nor/nor//B/B*, *rin/rin//ogc/ogc*, *rin/rin//B/B*, *t/t//alc/alc*, *nor/nor//gf-3/gf-3*, двойные гомозиготы по генам измененного содержания каротиноидов и гетерозиготы генам, удлиняющим период сохранности плодов (лежкость): *norwt/nor//ogc/ogc*, *nor/norwt//B/B*, *rin/rinwt//ogc/ogc*, *rin/rinwt//B/B*, *t/t//alc/alcwt*, *norwt/nor//gf-3/gf-3*. Наряду с данными генотипами созданы и изучены гибридные комбинации, сочетающие в гетерозиготном состоянии два гена повышенного содержания каротиноидов и один ген лежкости: *nor/ogc//gf-3*, *nor/ogc//hp-2dg*, *nor/B//gf-3*, *nor/B//hp-2dg*, *rin/ogc//hp-2dg*, *rin/ogc//gf-3*, *rin/B//hp-2dg*, *rin/B//gf-3*. Выбор данных комбинаций обусловлен литературными данными, что аллельные гены *B* и *ogc*, участвуют в процессе биосинтеза каротиноидов (каротина, ликопина), гены серии *hp* увеличивают количество и размеры пластид, гены серии *gf* препятствуют разрушению хлорофилла. Анализ пигментного состава плодов томата проводился методами спектрофотометрии и ВЭЖХ. В результате анализа выявлены следующие особенности накопления каротиноидов в плодах: сочетание аллеля *B*, детерминирующего накопление каротина в плодах, с генами *nog* и *gin* приводит к накоплению лютеина; использование образцов с геном *hp-2dg* при создании гибридов в качестве материнской формы обеспечивает образование большего количества ликопина по сравнению с образцами, где ген *hp-2dg* находится в отцовской форме. Для использования полученных результатов в селекционном процессе отобраны формы с высоким содержанием ликопина, лютеина, превышающие данные показатели у стандартов в 1,5-2 раза. Созданы и проходят изучение гибриды лучших высококаротиниодных форм и форм с генами *cf-2 cf-5*, *I-2*, *Mi-1.2*. На основе созданных комбинаций планируется отобрать ценные гибриды и линейный материал, сочетающий гены лежкости, повышенного содержания каротиноидов и устойчивости к болезням.

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ СРОКИ ПЕРЕХОДА К КОЛОШЕНИЮ У ЯЧМЕНЯ НА ОСНОВЕ КАРТИРОВАНИЯ QTL В СЕРИИ РАСЩЕПЛЯЮЩИХСЯ ПОПУЛЯЦИЙ

**Потокина Е.К.** \*, **Злотина М.М.**, **Ковалева О.Н.**, **Лоскутов И.Г.**  
ГНУ Всероссийский институт растениеводства  
им. Н.И. Вавилова (Санкт-Петербург), Россия  
\*e-mail: e.potokina@vir.nw.ru

На сегодняшний день для ячменя разработаны молекулярные маркеры, позволяющие идентифицировать аллели некоторых генов, определяющих варьирование ценных хозяйственных признаков у сортов и селекционных линий с помощью ПЦР. К их числу относятся гены *VRN*, определяющие потребность в яровизации или ее отсутствии, и гены *Ppd*, определяющие реакцию растения на удлинившийся световой день. Параллельно ведется активный поиск новых генетических детерминант, влияющих на изменчивость параметров вегетационного периода у ячменя. Классическим методом идентификации генетических локусов, контролирующих изменчивость любого фенотипического признака, является картирование QTL (Quantitative Trait Loci). Число и расположение на генетической карте QTL, картированных для важнейших агрономических признаков ячменя, варьирует от скрещивания к скрещиванию, делая невозможным разработку молекулярных маркеров для генов с малым и умеренным фенотипическим эффектом. Количество картированных QTL зависит от объема естественного нуклеотидного полиморфизма, существующего между двумя родительскими генотипами конкретной картирующей популяции. Как следствие, в высшей степени достоверный QTL, идентифицированный в одной картирующей популяции, по естественным причинам может быть невозпроизводим в другой. Для выявления QTL важнейших признаков, целесообразно вовлекать в анализ не одно, а серию скрещиваний от разных родительских генотипов. В этом случае можно ответить на вопрос, какой именно нуклеотидный полиморфизм родительских генотипов коррелирует с «появлением» или отсутствием QTL в серии множественных скрещиваний. Еще одной проблемой при сравнении генетических карт от разных скрещиваний, и, соответственно, позиций QTL, является генотипирование картирующих популяций разными наборами молекулярных маркеров. Наконец, число и расположение QTL на генетической карте даже одного и того же скрещивания может не совпадать, если проводить фенотипическую оценку варьирования признаков в различных эколого-географических условиях. С учетом существующих проблем мы осуществили интегрированный подход к картированию QTL, определяющих изменчивость сроков колошения у ячменя, на серии картирующих популяций рекомбинантов, полученных от разных скрещиваний, выращенных в одинаковых эколого-географических условиях и генотипированных одним и тем же набором молекулярных маркеров. Используя научный ресурс в виде физической карты и генетических карт высокого разрешения (Nature, 2012), мы идентифицировали новый генетический локус, достоверно ускоряющий сроки перехода к колошению у ячменя в трех эколого-географических регионах РФ.

## ДОРОГАМИ ВАВИЛОВА: БИОРАЗНООБРАЗИЕ ПШЕНИЦ АЗИИ ВЧЕРА, СЕГОДНЯ, ЗАВТРА

**Гончаров Н.П.**

ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН  
(Новосибирск), Россия  
e-mail: gonch@bionet.nsc.ru

Н.И. Вавилов - организатор и руководитель многочисленных экспедиций по сбору растительных ресурсов среди ученых-путешественников занимает особое место – место одного из самых

успешных “охотников” за генетическими ресурсами культурных растений и их сородичей, который сначала обосновал, а затем обнаружил и собрал неожиданно большое для современников разнообразие их форм. Главная задача всех его экспедиций и экспедиций его сотрудников – поиск и сбор семян культурных растений и их диких сородичей, выяснение границ и особенностей земледелия в различных районах Земли. “От естествоиспытателя Советской страны наше государство ждет, прежде всего, широкого географического кругозора и активной помощи в познании и освоении ее огромных естественных ресурсов”, – писал Н.И. Вавилов [1939, с. 22]. Такая постановка задач сильно отличала его от майридовских охотников за растениями [Блукет, 1939], сохраняла, тем не менее, их “романтику поиска”. Романтика и трудности его экспедиционной деятельности отражены в автобиографической книге “Пять континентов” [Вавилов Н.И., 1987]. К сожалению, Н.И. Вавилов часто не успевал делать подробные отчеты по всем своим экспедициям и путешествиям. В то же время экспедиционный материал он интенсивно использовал в своих работах: «Проникая в любую страну, хотелось сделать очень много, понять «земледельческую душу» этой страны, ее условия, освоить ее видовой и сортовой состав, взять из нее наиболее нужное и связать в единое целое данные этой страны с эволюцией мирового земледелия, мирового растениеводства... Автор попытался соединить трудно соединяемое — географию, ботанику, агрономию, историю культуры в полном сознании того, что надо сделать много больше, чем сделано» [Вавилов Н.И., 1987, с. 15]. В результате проведения экспедиций им была сформулирована гипотеза о центрах происхождения культурных растений [Вавилов, 1926, 1927, 1940]. Кроме того, посещение им “стран Ойкумены” дало дополнительную информацию для детализации вопросов происхождения важнейших сельскохозяйственных культур [Вавилов Н.И., 1929]. Размах экспедиционной деятельности Н.И. Вавилова заинтересовал правительства и ученых многих стран. Поняв огромную значимость сборов растительного материала, ему стали подражать и подражают до сих пор, а его имя упоминается наряду с именами наиболее прославленных путешественников. В конце прошлого и начале нашего веков неоднократно предпринимались попытки «повторных» экспедиций по маршрутам, пройденным Н.И. Вавиловым (см. обзор [Гончаров, 2012]). При этом коллекторами ставились разные цели: а) повторный сбор утерянного; б) сбор для оценки динамики разнообразия пшениц; в) мониторинг экосистем; г) оценка изменения сортотипов и систем земледелия и т.д. В настоящее время определенный интерес представляет сбор материала в тех местах или государствах (территориях), которые Н.И. Вавилов в свое время не смог по тем или иным причинам посетить. В докладе рассматриваются эти и другие вопросы на материале собственных экспедиций (Армению, Горно-Бадахшанскую АО РТ (Памир), Израиль, Эфиопию и др.) и экспедиций отечественных и зарубежных коллег по маршрутам Н.И. Вавилова.

## СЕЛЕКЦИЯ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К СТЕБЛЕВОЙ РЖАВЧИНЕ В УСЛОВИЯХ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

**Шаманин В.П.** \*,<sup>1</sup>, **Моргунов А.И.** <sup>2</sup>, **Петуховский С.Л.** <sup>1</sup>,  
**Лихенко И.Е.** <sup>3</sup>, **Потоцкая И.В.** <sup>1</sup>, **Карказ И.И.** <sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина (Омск), Россия;

<sup>2</sup>Представительство СИММИТ в Турции (Анкара), Турция;

<sup>3</sup>ГНУ Сибирский научно-исследовательский институт селекции и растениеводства (Краснообск), Россия

\*e-mail: vpshamanin@rambler.ru

Данные анализа метеорологических условий за последние 50

лет в Западно-Сибирском регионе и урожайности зерна за период 2002-2012 гг. сортов яровой мягкой пшеницы созданных в ОмГАУ, свидетельствуют о тенденции повышения температуры воздуха в отдельные периоды вегетации растений и снижения общего уровня урожайности, что обуславливает необходимость расширения генотипического разнообразия создаваемых сортов с целью повышения стабильности урожая в регионе. Оценка коллекции яровой мягкой пшеницы показала, что сибирские сорта практически не имеют эффективных генов устойчивости к стеблевой ржавчине. Создана коллекция яровой мягкой пшеницы по устойчивости с эффективными генами *Sr*. В условиях Западной Сибири проведена оценка челночного селекционного материала яровой мягкой пшеницы и показана возможность создания устойчивых к болезням и засухе сортов на основе использования генотипического разнообразия популяций, созданных по международной программе СИММИТ-Казахстан-Россия. С помощью метода молекулярных маркеров идентифицированы гены устойчивости к стеблевой и бурой ржавчине: у линии (FITON 156/5/SERI\*3//RL6010/4\*YR/3/ PASTOR/4/BAV92/6/FITON42) идентифицированы гены Lr19/Sr25 и Sr25, у линии (SIBAKOVSKAYA YUBILEYNAYA/3/ EMB16/CBRD//CBRD/4/27.90.98.3 идентифицированы гены Lr26/Sr21 и Sr24. Созданный исходный материал по программе челночной селекции и включенный в селекционный процесс ОмГАУ, в 2013 году в питомниках составил следующую долю: СП-1 -70%, СП-2- 64% , контрольный питомник (КП) – 12% и предварительное сортоиспытание (ПСИ) -40% . Высокий процент челночного селекционного материала в питомниках свидетельствует об его значимости для селекции в условиях региона.

#### ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ КУЛЬТУРНЫХ ВИДОВ КАРТОФЕЛЯ И ИХ ДИКОРАСТУЩИХ ПРЕДШЕСТВЕННИКОВ ПО ДАННЫМ ИЗУЧЕНИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ОРГАНЕЛЬНЫХ ДНК

Гавриленко Т.А.<sup>\*,1</sup>, Антонова О.Ю.<sup>1</sup>, Шувалова А.Р.<sup>1</sup>, Крылова Е.А.<sup>1</sup>, Овчинникова А.Б.<sup>1</sup>, Алпатьева Н.В.<sup>1</sup>, Спунер Д.<sup>2</sup>, Новикова Л.Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Университет Медисон (Висконсин), США

\*e-mail: tatjana9972@yandex.ru

Возделываемый картофель находится на третьем месте в мире среди продовольственных культур и также активно используется в различных областях биоиндустрии. Недавно выполнено полное секвенирование генома картофеля, что значительно интенсифицировало исследования по геномике этого вида. В то же время, до сих пор существуют противоречия в вопросах происхождения возделываемого картофеля и в представлениях о центрах доместикации. Среди огромного разнообразия видов картофеля (систематики выделяют от 100 до 230 диких видов, которые имеют пять уровней пloidности и несут разные ядерные геномы А, В, Р, С) большой интерес представляет небольшая группа близкородственных диких видов с базовым А геномом, которые были вовлечены в процессы доместикации. В данной работе проведен молекулярно-генетический анализ разнообразия культурных и предковых диких видов картофеля. Материалом для исследования послужила широкая выборка, включающая 155 образцов диких видов (*S.candolleianum*, *S.brevicaule*, *S.acaule*, *S.berthaultii*, *S.boliviense*), которые считаются предками культурного картофеля, и 238 образцов всех культурных видов, представленных аборигенными сортами из разных регионов Южной Америки. Для определения типов цитоплазм использовали 6 CAPS и SCAR маркеров, специфичных к определенным локусам хлДНК и мтДНК. Для изучения внут-

ри- и межвидового полиморфизма 15 микросателлитов хлДНК использована система Licor-4300S. Для ряда образцов проведено секвенирование отдельных последовательностей хлДНК. Полученные данные сопоставлялись с нашими предыдущими результатами - образцы выборки ранее были охарактеризованы по числу хромосом, морфологическим признакам и полиморфизму 19 хромосомспецифичных микросателлитов. На основании полученных результатов проведено сравнение уровня разнообразия диких и культурных видов картофеля. Высокий уровень полиморфизма микросателлитов хлДНК отмечен у диких видов - у 155 образцов выявлены 110 гаплотипов, и только четыре из них (I-IV) встречались у аборигенных сортов. Резкое сужение генетического разнообразия показано для культурных видов - у 238 образцов выявлен 21 гаплотип, при этом 88% аборигенных сортов имели только четыре гаплотипа I-IV. Специфичные делеции в разных участках хлДНК имеют представители гаплотипов I, III, VIII, XVIII, дубликации - образцы с гаплотипом XVI. Ни один из гаплотипов не являлся видоспецифичным. Выявлены представители популяций диких видов наиболее близкие (по данным кластерного NJ анализа) к культурному картофелю. Наибольшее разнообразие культурных видов отмечено в регионе современного южного Перу. Полученные результаты согласуются с представлениями о том, что интродукция культурного картофеля в южные регионы (Чили) сопровождалась спонтанной гибридизацией с *S. berthaultii* (источник Т/бета стерильного типа цитоплазмы). Исследования проведены при поддержке проектов: РФФИ-11-04-01002а, РФФИ-12-04-32250-мол\_а, МНТЦ 3329.

#### ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ *PISUM SATIVUM* И ФИЛОГЕНИЯ РОДА *PISUM*: ДАННЫЕ КОМПЛЕКСНОГО МОЛЕКУЛЯРНОГО АНАЛИЗА

Дьяченко Е.А., Рыжова Н.Н., Кочиева Е.З.<sup>\*</sup>

Центр «Биоинженерия» РАН (Москва), Россия

\*e-mail: kochieva@biengi.ac.ru

Род *Pisum* является объектом многих генетических исследований. Однако, не смотря на достаточную изученность отдельных генов и локусов культурного гороха *P. sativum*, потенциал генетического биоразнообразия рода исследован слабо. До сих пор нет единого мнения по поводу состава и границ рода *Pisum*. Вопрос таксономии гороха остается весьма дискуссионным, а его происхождение и положение в трибе *Viciae* довольно неоднозначны. Результаты ранее проведенных исследований расходятся в вопросах видового состава рода *Pisum* и его филогении, что связано, прежде всего, с использованием отдельных специфических областей генома и ограниченных выборок образцов. В данной работе впервые проведен комплексный молекулярный анализ генетического разнообразия генофонда гороха *P. sativum* и его дикорастущих сородичей (эколого-географические группы, формы и разновидности, стародавние и современные сорта), представленного в коллекции ГНУ ГНЦ РФ ВИР. Впервые охарактеризовано генетическое разнообразие рода с использованием мультилокусных систем молекулярного анализа (AFLP, RAPD), а также анализа семейства генов резистентности (RGA-профайлинг) и отдельных локусов ядерного (ITS1-5.8S-ITS2, SSR), хлоропластного и митохондриального геномов. Впервые получены и охарактеризованы последовательности генов углеводного метаболизма. На основе полученных данных были оценены уровни генетического разнообразия, проведен фенетический и кладистический анализы исследованных образцов гороха. Определен состав и границы рода *Pisum*. Определена молекулярная филогения рода и близкородственных видов трибы *Viciae*, включая представителей родов *Lathyrus*, *Vicia*, *Vavilovia*, *Lens*. Получены ДНК маркеры



эффективные для определения таксономической принадлежности образцов *Pisum*.

Работа финансировалась из средств программы фундаментальных исследований президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития», подпрограммы «Динамика и сохранение генофондов».

#### ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА ЯБЛОНИ НА ОСНОВЕ ДНК-МАРКЕРОВ

**Шамшин И.Н.** <sup>\*,1</sup>, **Савельев Н.И.** <sup>1</sup>, **Кудрявцев А.М.** <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский НИИ генетики и селекции плодовых растений им. И.В. Мичурина (Мичуринск), Россия;

<sup>2</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия

\*e-mail: ivan\_shamshin@mail.ru

Проведена оценка полиморфизма ДНК сортов и форм яблони с использованием SSR-анализа. Всего проанализировано 15 микросателлитных локусов на 71 растении отечественных и зарубежных сортов и форм яблони. На пятнадцати полученных электрофореграммах всего было выявлено 217 фрагментов. Все амплифицированные фрагменты оказались полиморфными и выявляли различия между генотипами. При этом значительная часть выявляемых аллелей относится к редким. Определено, что многие аллели встречаются только один раз среди анализируемых генотипов. Число фрагментов, амплифицируемых одним праймером, варьировало от 10 (CH02c02b) до 20 (CH03d07) и в среднем в пересчете на праймер составило 14,5, что свидетельствует о высоком уровне полиморфизма рассматриваемых локусов микросателлитных последовательностей. Всего выделено 36 сортообразцов для которых идентифицированы специфичные аллели. Наибольшее количество уникальных аллелей (по три аллели) отмечены у сортовой формы Кавказское самоплодное и сорта Пепин шафранный. Анализ генетического сходства показал отсутствие четкого разделения на кластеры у образцов, что подтверждает и низкое значение индекса бутстреп. Вероятно, отсутствие кластеризации обусловлено специфичностью выборки сортов. На основе анализа молекулярных маркеров изучено аллельное разнообразие генов лежкости у сортов и форм яблони. С использованием SCAR-маркеров генов *Md-ACO1* и *Md-ACS1*, вовлеченных в биосинтез этилена выявлены 5 гомозиготных форм, несущих в генотипе дефектные аллели *Md-ACS1-2* и *Md-ACO1-1*, обуславливающие сниженный уровень продукта гена. С применением микросателлитного маркера *MD-Exp7<sup>SSR</sup>* выявлены комбинации 3 аллельных форм гена *MD-Exp7*, контролирующих низкий уровень синтеза белка экспансина, что позволяет плодам сохранять высокую плотность мякоти продолжительный срок. На основании полученных данных выделены генетические источники с продолжительной лежкостью плодов.

#### ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ МЕЖДУ СОРТАМИ *FAGOPYRUM ESCULENTUM* MOENCH., ВЫЯВЛЕННЫЕ RAPD АНАЛИЗОМ

**Суворова Г.Н.** <sup>\*,1</sup>, **Мартыненко Г.Е.** <sup>1</sup>, **Ян Ч.** <sup>2</sup>, **Зотиков В.И.** <sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГНУ Всероссийский НИИ зернобобовых и крупяных культур (Орел), Россия;

<sup>2</sup>Северо-западный сельскохозяйственный университет (Янлин), Китай

\*e-mail: galina@vniizbk.ru

RAPD-анализ использовался в целях изучения генетических взаимоотношений между сортами гречихи *Fagopyrum*

*esculentum* Moench. Растительный материал был представлен 28 образцами, из них 23 сорта российского происхождения, в основном Орловской селекции, и 5 сортов китайской селекции. Российские сорта отличались друг от друга типом роста (детерминатные и индетерминатные), окраской цветка (белые и зеленоцветковые), формой листовой пластинки (обычная и треугольная), китайские сорта были белоцветковые, индетерминатные с обычным типом листа и морфологически мало различались. ДНК каждого сорта выделяли из 5 проростков STAB методом в собственной модификации. Четыре выбранных праймера (OPW02, OPC06, OPD02, OPA11) генерировали в целом 55 фрагментов ДНК, из которых 41 были полиморфными и 14 мономорфными. Для некоторых генотипов получены уникальные спектры и выделены RAPD-маркеры. Коэффициент различий между сортами варьировал в пределах 0,07-0,69. Причем сорта китайского происхождения в большей степени генетически отличались друг от друга, чем русские сорта. Дендрограмма показала, что китайские образцы формировали отдельный кластер, за исключением популяции 61/08, которая оказалась в одной группе с сортом TQ 01. Во втором кластере, объединяющем русские сорта, выделены как группы сортов, так и отдельные генотипы. Сорт Сумчанка, первый сорт гречихи с детерминатным типом роста, оказался генетически уникальным и не ассоциировался ни с одной из групп, также как популяции 50/06 (треугольнолистная) и 76/08 (длинные соцветия кисти). Генетически близки друг другу оказались сорта обычного типа Богатырь, Аромат, Калининская. Близко расположены зеленоцветковые популяции гречихи (58/08 и 70/08), также как и детерминатные сорта Девятка и Дождик. Несмотря на то, что российские сорта гречихи достаточно контрастны по морфологическим признакам, генетически они различимы в меньшей степени, чем сорта китайского происхождения. Тем не менее, принимая во внимание перекрестный характер опыления, можно констатировать, что сорта гречихи созданные даже в одном селекционном учреждении, генетически отличимы друг от друга. RAPD метод может быть одним из способов идентификации сортовой принадлежности гречихи.

#### НАСЛЕДУЕМЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ МУЖСКОЙ ФЕРТИЛЬНОСТИ У ГИБРИДОВ СОРГО С ЦМС-ИНДУЦИРУЮЩЕЙ ЦИТОПЛАЗМОЙ 9E, ВЫЗВАННЫЕ УСЛОВИЯМИ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ

**Эльконин Л.А.** <sup>\*</sup>, **Цветова М.И.**

ГНУ Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Юго-Востока Россельхозакадемии (Саратов), Россия

\*e-mail: lelkonin@gmail.com

Наследуемые изменения фенотипа, возникающие в онтогенезе растений под влиянием факторов внешней среды, относятся к числу наиболее интригующих генетических явлений. Нами при изучении генетики восстановления фертильности в стерильной цитоплазме сорго типа 9E установлено необычное явление: гены-восстановители фертильности проявлялись у гибридов F<sub>1</sub> и были функционально активны в последующих поколениях, полученных путем самоопыления. Однако в тест-кроссах с ЦМС-линиями с тем же типом цитоплазмы гены-восстановители не экспрессировались. Установлено, что одной из причин столь необычного характера экспрессии генов-восстановителей являются условия влагообеспеченности растений на этапе микроспорогенеза: при выращивании в условиях высокой влажности гены-восстановители «включались», как в F<sub>1</sub>, так и в тест-кроссах. При выращивании в условиях засухи гены-восстановители не функционировали. В семьях F<sub>2</sub> условия влагообеспеченности не оказывали столь значительного эффекта: гены-восстановители экспрессировались как

при высокой влажности (в грядке с искусственным поливом), так и при засухе (в искусственном «засушнике»). Было также установлено, что при переносе стерильных гибридов  $F_1$ , выращенных в полевых условиях, в теплицу, у них развивались фертильные побеги, и потомство, полученное от таких побегов, было фертильным при выращивании, как в полевых условиях, так и в «засушнике». «Индукцированная» фертильность наследуется в течение 5 поколений. Примечательно, стерильные растения из семей  $F_2$ , выщеплявшиеся в потомстве фертильных гибридов  $F_1$  как рецессивный класс, при переносе в теплицу в большинстве случаев также формировали фертильные побеги, и «индуцированная» фертильность стабильно наследовалась в их потомстве. Некоторые из ревертантов, индуцированных высоким уровнем влагообеспеченности, обладают способностью к восстановлению фертильности гибридов  $F_1$  с ЦМС-линиями на исходной цитоплазме типа 9E, однако в большинстве случаев индуцированная фертильность не передавалась через пыльцу, либо проявлялась у гибридов  $F_1$  только в условиях высокой влагообеспеченности. Реверсии к фертильности обнаружены также и у ЦМС-линий с цитоплазмой 9E при выращивании в условиях теплицы, однако в потомстве таких ревертантов фертильность не наследовалась. Эти данные свидетельствуют, что функциональное состояние генов-восстановителей стерильной цитоплазмы типа 9E является эпигенетически-регулируемым признаком, устанавливаемым под влиянием внешней среды и передающимся при половом размножении. Начаты работы по выявлению изменений метилирования ДНК у ревертантов с помощью MSAP-анализа. Исследования выполнены при финансовой поддержке РФФИ, грант 13-04-01404.

#### ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СЕЛЕКЦИИ СОРТОВ РИСА НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ПИРИКУЛЯРИОЗУ

*Зеленский Г.Л.*

*ФГБОУ ВПО Кубанский государственный аграрный университет (Краснодар), Россия*  
e-mail: zelensky08@mail.ru

Среди грибных заболеваний, поражающих рис, пирикуляриоз является наиболее вредоносным. Болезнь вызывается несовершенным грибом *Pyricularia oryzae* Cav. Рис восприимчив к пирикуляриозу во все фазы вегетации. Селекция риса на иммунитет к этой болезни в России начата в 1982 г. Отбор доноров устойчивости осуществлен на основе идентификации генов, контролирующих этот признак у риса. Гены устойчивости риса к *P. oryzae* обозначены символом *Pi*. К середине 70-х годов у сортов риса было описано 16 генов устойчивости: *Pi-a*, *Pi-b*, *Pi-i*, *Pi-f*, *Pi-k*, *Pi-k<sup>h</sup>*, *Pi-k<sup>p</sup>*, *Pi-k<sup>s</sup>*, *Pi-m*, *Pi-s*, *Pi-t*, *Pi-ta*, *Pi-ta<sup>2</sup>*, *Pi-ta<sup>n</sup>*, *Pi-z*, *Pi-z<sup>1</sup>*. Эффективность этих генов в различных регионах мира неодинакова. Имея сведения о распространении генов устойчивости в сортах и генов вирулентности в популяциях патогена, у селекционеров появилась возможность отбирать и использовать в селекции сорта с эффективными генами устойчивости для данного региона. При селекции сортов риса с расоспецифической устойчивостью к пирикуляриозу учитывали, что в Европейской части страны эффективными генами устойчивости к *P. oryzae* являются *Pi-z*, *Pi-z<sup>1</sup>*, *Pi-ta<sup>2</sup>* и *Pi-b*. Это предопределило выбор доноров для гибридизации. В результате совместной работы с фитопатологами создан ряд сортов риса, из которых сорт Снежинка внесен в Госреестр и допущен к использованию в РФ. Оценка селекционного материала на инфекционном фоне позволила отобрать, наряду с иммунными образцами, сорта и формы риса с высокой толерантностью к болезни, с так называемой полевой (горизонтальной) устойчивостью. Эта устойчивость дает не полную, но постоянную защиту, разрушается патогеном и контролируется полигенно

в большинстве сортов. За прошедшие 30 лет, на основе генетических исследований, созданы сорта устойчивые к пирикуляриозу. Лучшие из них внесены в Госреестр и допущены к использованию: Славянец (1991), Павловский (1995), Спринт (1996), Курчанка (1997), Лидер (1999), Виола (2001), Снежинка (2003) Виолетта (2007), Атлант (2007) Кумир (2009), Южный (2009), Гамма (2010), Австрал и Олимп (2013). Эти сорта генетически защищены от этого опасного заболевания риса и не требуют химической защиты.

#### ПОВЫШЕНИЕ ПРОДУКТИВНОСТИ КОЛОСА ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ ПОЛУЗАСУШЛИВОГО КЛИМАТА

*Панайотов И.*

*Опытная сельскохозяйственная станция «Дунав» (Свищов), Болгария*

e-mail: ivan\_panayotov@mail.bg

Существуют два основных способа увеличения продуктивности пшеницы – увеличение такого показателя, как число зерен с колоса, или увеличения числа побегов на растение. В нашей работе более сложный первый способ был выбран, как более перспективный путь для улучшения продуктивности линии пшеницы из СУММИТ. После нескольких скрещиваний и бэк-кроссов к 2013 г. был получен генетически стабильный материал. В результате, некоторые селекционные образцы имеют длину колоса 18-20 см, количество колосков в колосе – 24-26 шт., число зерен в колоске от 4 до 7-8 шт., в колосе – 100-125 зерен. Зерна, как правило, хорошо выполненные с показателем «вес 1000 зерен» 42-45 г. Растения обладали нормальной способностью к кущению 1,5-2 побега на растение. Наблюдалась однородность по форме колоса и длине стебля. На протяжении лет эти показатели оставались стабильными при посеве 350-400 зерен (350 растений) на квадратный метр. Изученные признаки наследовались, как доминантные или промежуточные при оценке в  $F_1$ . Описанные показатели позволяют рассматривать полученный материал в качестве подходящей основы для будущих селекционных подходов.

#### ИНТРОГРЕССИЯ ХРОМАТИНА ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.) В ГЕНОМ РЖИ (*SECALE CEREALE* L.)

*Гордей И.А.\**, *Белько Н.Б.*, *Гордей И.С.*, *Люсиков О.М.*

*ГНУ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (Минск), Республика Беларусь*

\*e-mail: I.Gordej@igc.bas-net.by

Кардинальная проблема интрогрессии генетического материала для предотвращения «генетической эрозии» сельскохозяйственных растений – перенос не отдельных генов, а блоков генов, скоординированно работающих на признак, на основе межгеномных комбинаций и рекомбинаций хромосом и поэтапного ДНК-маркирования гибридного материала для выделения интрогрессий. Перспективность использования межвидовых интрогрессий в селекции зерновых культур подтверждают теоретические разработки и практические результаты, полученные у пшеницы: в мировом генофонде пшеницы (*T. aestivum* L.) известно 650 коммерческих сортов, содержащих в геноме пшенично-ржаные транслокации (1BL/1RS, 1AL/1RS, 2AL/2RL, 2BS/2RL и др.). Геном ржи не затронут интрогрессией генетического материала пшеницы. Теоретической основой реципрокной интрогрессии у злаков является закон гомологических рядов наследственной изменчивости Н.И. Вавилова, основанный на гомологии генов, генных порядков и отдельных

хромосом филогенетически близких родов и видов. Нами разработана методическая модель интрогрессии генетического материала пшеницы в геном ржи, основанная на гибридизации тетраплоидной ржи (RRRR,  $4x=28$ ) с видом-посредником и источником геномов пшеницы - гексаплоидными тритикале (AABBRR,  $6x=42$ ), с последующим беккроссом гибридов  $F_1$  (RRABR,  $5x=35$ ) на самофертильную (sf) тетраплоидную рожь. Она базируется на следующих генетических факторах и предпосылках: (1) относительно высокая совместимость тетраплоидной ржи (RRRR,  $4x=28$ ) с гексаплоидными тритикале (AABBRR,  $6x=42$ ), основанная на ингибировании S-PH-Каз ржи; (2) специфический геномный и хромосомный состав ржано-тритикальных гибридов  $F_1$  (RRABR,  $5x=35$ ); (3) промоторный эффект тройной дозы генома ржи на гомеологичную конъюгацию хромосом в мейозе у гибридов  $F_1$ , число бивалентов 10-12, вместо теоретически ожидаемых 7; (4) базовый диплоидный геном ржи (RR) у гибридов  $F_1$  - фактор частичной нормализации мейоза и формирования жизнеспособных гамет; (5) специфичность формирования жизнеспособных гамет различного хромосомного состава в зависимости от степени доминирования пшеничных (Ph, I/Edu) или ржаных (Sy, P/Edu) генетических систем контроля мейоза у гибридов  $F_1$ ; (6) возможность формирования гамет ржи с интрогрессией генетического материала пшеницы и их утилизации при беккроссе гибридов  $F_1$  на рожь; (7) активация транспозиций мобильных генетических элементов у отдаленных гибридов и формирование межгеномных транслокаций; (8) использование генов самофертильности (sf) у ржи для сохранения интрогрессий. В докладе обсуждаются экспериментальные результаты исследований генетических факторов интрогрессии хроматина мягкой пшеницы в геном тетраплоидной ржи в процессе создания рекомбинантных форм ржаного типа.

#### ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СЕЛЕКЦИИ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ В УСЛОВИЯХ МЕНЯЮЩЕГОСЯ КЛИМАТА НА ДОНУ

*Грабовец А.И. \*, Фоменко М.А.*

ФГБУН Донской НИИ сельского хозяйства РАСХН (Ростов-на-Дону), Россия

\*e-mail: grabovets\_ai@mail.ru

Начиная с 1990 года, на Дону начали фиксировать заметные подвижки параметров, определяющих климат. Они проявляются в общем его потеплении, в резком увеличении размаха варьирования погодных ингредиентов, некотором уменьшении количества осадков, переносе их выпадения с весенне-летнего периода на осенне-зимний, увеличении числа дней с отсутствием осадков и засухами в летний период. Это в свою очередь вызвало существенные изменения в биотах вредителей и болезней, в особенностях роста и развития растений. В складывающихся условиях возникла необходимость в создании сортов пшеницы нового поколения, адаптированных к вызовам природы. В основу селекции положены различные методы получения генетической изменчивости (внутри- и межвидовая гибридизация, химический и экологический мутагенез), разработка путей выявления свободной изменчивости, поддающейся отбору. В программах с использованием гибридизации применяется принцип создания максимально гетерогенных популяций с продолжительной по годам рекомбинацией. Большое значение при этом уделяется познанию особенностей коадаптации основных признаков в конкретных условиях среды, определяющих экологическую пластичность и продуктивность нового генотипа. Причем генетическая рекомбинация при длительном формообразовании должна подкрепляться направленным отбором. При этом на каждой "ступеньке" отборов в популяции после рекомбина-

ции выделяли высокопродуктивные экологически пластичные константные формы с коадаптированными комплексами генов. Их скрещивали на следующей "ступеньке" с другим сортом, и процесс повторялся, но уже с усилением выраженности селективируемых признаков. Следует отметить значимую роль использованных местных генотипов с высокоадаптивными комплексами генов. При этом в купе со средой происходило увеличение дозы гена, контролирующего степень выраженности признака в отношении устойчивости к стрессору. Конечно, роль местных форм в качестве одного из основных направлений в селекции из-за проблем с потенциалом продуктивности у потомков не следует сильно преувеличивать. Движущим локомотивом при селекции на продуктивность и другие основные свойства морфобиотипа является трансгрессивная изменчивость признаков. За 1967-2012 гг. в Госреестр РФ включено 29 сортов озимой пшеницы. Преобладающая их часть - это трансгрессивные генотипы. Довольно четко отработаны методические аспекты получения плюстрасгрессий по продуктивности, содержанию белка, морозо-, зимостойкости, особенностям формирования стеблестоя, высоте растений и др. На этой основе созданы новые генотипы, использующие меньшее количество почвенной влаги на создание единицы сухого вещества (сорта Губернатор Дона, Донская лира, Донна, Золушка).

#### ФОРМИРОВАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ИДЕНТИФИЦИРОВАННЫХ ГЕНОФОНДОВ ВИДОВ РОДА *TRITICUM* L. ДЛЯ НАУЧНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И СЕЛЕКЦИИ

*Митрофанова О.П.*

Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (Санкт-Петербург), Россия

e-mail: o.mitrofanova@vir.nw.ru

В рамках совершенствования стратегии сохранения и рационального использования генетических ресурсов растений в России проводится анализ структуры генетического разнообразия пшеницы, представленного в коллекции ВИР почти 40 тыс. образцов, относящихся к 26 видам пшеницы различного геномного состава и уровня плоидности, различающихся по статусу и происходящих более чем из 80 стран мира. Цель исследований – обеспечить наиболее полное сохранение генофондов различных видов, осуществлять мониторинг их состояния и сделать коллекцию в генетическом отношении более охарактеризованной и эффективной для использования. В настоящее время на основании обобщения и анализа доступной информации и результатов собственных исследований проводят иерархическую стратификацию коллекций различных видов пшеницы, т.е. их разделение на значимые (генетически различающиеся) группы (наборы образцов), репрезентативно представляющие внутривидовое эколого-географическое, фенотипическое и генетическое разнообразие пшеницы по различным признакам и направлениям селекции. Сформированы наборы образцов по устойчивости к наиболее вредоносным болезням, жаростойкости и устойчивости к засухе, устойчивости к низким отрицательным температурам и комплексу факторов перезимовки, отличающиеся высоким содержанием белка и клейковины, по составу белков, определяющих различные свойства клейковинного комплекса, по отдельным признакам продуктивности и легкой скрещиваемости мягкой пшеницы с другими видами. Эти наборы образцов предназначены для проведения целевых углубленных научных исследований и использования в селекции. Генофонд современных отечественных селекционных сортов оценивается с использованием белковых и ДНК-маркеров, с применением методов анализа родословных и многомерной статистики с целью его паспортизации, определения общего



уровня и структуры представленного в нем разнообразия. Особое внимание уделяется расширению генофонда мягкой пшеницы за счет привлечения в него сортов и линий, содержащих генетический материал пшеницы Тимофеева, эгилопс, пырея, ржи, житняка, обуславливающих устойчивость пшеницы к биотическим и абиотическим неблагоприятным факторам среды, прежде всего, болезням. Наличие эффективных чужеродных генов проверяют с помощью фитопатологического анализа и ДНК-маркеров. Для тестирования возможности комбинирования чужеродных генов с генами, определяющими приспособленность пшеницы к различным локальным условиям, этот материал передается во все селекционные учреждения России, с которыми у ВИР есть договора о творческом сотрудничестве, для изучения и включения его в программы скрещиваний. Проведение исследований сопровождается созданием информационной платформы, интегрирующей паспортные, описательные, оценочные базы данных об образцах с их генотипическими характеристиками, для оперативного управления идентифицированными генофондами видов и их мониторинга.

### НАПРАВЛЕНИЕ СЕЛЕКЦИИ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ И АДАПТИВНОСТЬ: ПРОТИВОРЕЧИЕ ИЛИ КОНСОНАНС

**Сюков В.В.**

*ГНУ Самарский Научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. Н.М. Тулайкова Россельхозакадемии (Безенчук), Россия*

e-mail: vsyukov@mail.ru

Соотношение направлений отбора на потенциал продуктивности и адаптивности к комплексу абиотических, биотических и техногенных факторов среды в теории селекции до конца не определено. По мнению некоторых ученых «не преодолено важнейшее противоречие между продуктивностью и устойчивостью сельскохозяйственных растений» (Шевелуха, 2001). На практике же большинство селекционеров, не отрицая сложность проблемы объединения в одном генотипе высокой продуктивности и адаптивности, считают такое объединение возможным и желательным (Жученко, 2001). Но мы склонны считать, что, в большинстве случаев оба направления отбора находятся не в диссонансе, а представляют стороны одного процесса. Продуктивность – есть конечный результат экспрессии всех генетических систем, ответственных за рост и развитие агроценоза, в том числе, и в первую очередь, генетических систем гомеоадаптивности. С целью обоснования такого подхода были проанализированы урожайные данные конкурсного сортоиспытания за 2004-2013 годы. Опыты закладывались по непаровым предшественникам без применения дополнительных факторов интенсификации. Были изучены 11 сортов пяти последовательных периодов сортосмены начиная от сорта Лютесценс 62 (в производстве с конца 20-х годов) до сортов Тулайковская 10 (с 2003 г), Тулайковская золотистая (2004) и Тулайковская 100 (2007). Выявлены достоверные положительные тренды по урожаю зерна как в среднем за годы исследований (от 7,9 ц/га у сортов первого периода сортосмены до 11,1 ц/га у сортов пятого периода), так и в благоприятные для проявления потенциальной урожайности годы (20 16,3 ц/га до 20,4 ц/га). Но при этом такой же силы тренды и в том же направлении отмечены и для основных параметров гомеоадаптивности (по Хангильдину, Соболеву, Драгавцеву, Мартынову, Кильчевскому). Еще явственнее эта закономерность прослеживается для сортов, создаваемых методами экологической селекции (программа «Экада»). Таким образом, можно констатировать, что основной генетический сдвиг по продуктивности у сортов яровой мягкой пшеницы определяется генетическими системами, детерминирующими устойчивость к комплексу абиотических, биотических и техногенных факторов среды.

### СОЗДАНИЕ И АНАЛИЗ ЭЛЕКТРОННОЙ БАЗЫ СПУТНИКОВЫХ СНИМКОВ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕЗЕРВАТОВ ОСНОВНЫХ ЛЕСООБРАЗУЮЩИХ ПОРОД СВЕРДЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ

**Лебедев В.А., Шавнин С.А.\***

*ФГБУН Ботанический сад УрО РАН (Екатеринбург), Россия*

\*e-mail: sash@botgard.uran.ru

С целью сохранения генофонда основных лесобразующих пород в 1982-1984 гг. в разных климатических зонах Свердловской области были выделены и сохранены участки леса с наиболее высокими лесоводственными характеристиками. Всего было заложено 111 резерватов средней площадью около 1000 га. В 2004 Управление лесного хозяйства Свердловской области утвердило выделенные ранее территории (с небольшими изменениями) в качестве генетических резерватов основных лесобразующих пород (ГРЛП). Для изучения современного состояния ГРЛП проведен поиск и анализ спутниковых снимков всех территорий, ограниченных утвержденными в 2004 г. GPS-метками. Анализ спутниковых снимков, и выборочное сравнение с картографическими данными материалов лесоустройств, показали, что ориентирование по опорным GPS-меткам не всегда позволяет выявить границы резервата, а в ряде случаев данные содержат существенную ошибку либо недостоверны. Для оценки ГРЛП введен параметр «адекватность выделения границ GPS-метками», включающий три уровня. В результате анализа установлено, что границы 35% ГРЛП выделены «адекватно» (границы понятны, двоякое толкование невозможно), 57% «требует уточнения», 8% «требует переделки». В 1983-84 гг. в ранг ГРЛП были переведены территории с различными категориями защищенности (нерестовоохраняемые зоны, защитные полосы вдоль рек, защитные полосы вдоль дорог, почвозащитные леса, памятники природы и др.). В существующей документации ГРЛП, насаждения которых подверглись сильному антропогенному воздействию, данная информация имеется не всегда, что позволяет неоднозначно трактовать статус территорий резерватов. Для каждого ГРЛП проведена количественная оценка степени инфлюкса чуждой пыльцы из окружающих насаждений, учитывающая степень изолированности резерватов от окружающих лесных массивов. Начато создание банка семян на основе ГРЛП (собраны семена сосны обыкновенной с 9 резерватов). Проведена оценка нарушения антропогенными воздействиями насаждений каждой из 111 территорий. Нарушенность высокая - 50%, средняя - 21%, слабая - 29%. В связи с обнаружением значительного количества относительно недавних вырубок насаждений в ГРЛП, внесено предложение по дистанционному космическому мониторингу охраняемых территорий, успешно проводимому в лесах Свердловской области. Работа выполнена при финансовой поддержке Программы Президиума РАН №12-П-4-1062 и гранта ОФН №13-44-016-СГ.

### ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ОРИГИНАЛЬНОСТИ И СОСТОЯНИЯ ГЕНОФОНДОВ ДРЕВЕСНЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ УРАЛА

**Боронникова С.В.\*<sup>1,2</sup>, Лисина Т.В.<sup>1,2</sup>, Бобошина И.В.<sup>2</sup>, Нечаева Ю.С.<sup>2</sup>**

*<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет (ПГНИУ) (Пермь), Россия;*

*<sup>2</sup>Естественнонаучный институт ПГНИУ (Пермь), Россия*

\*e-mail: SVBoronnikova@yandex.ru

Для решения проблемы сохранения и рационального использования генетической компоненты биологического разнообразия лесных сообществ рекомендуется технология оценки генетической оригинальности и состояния генофондов древесных видов растений. Для

выявления генетического разнообразия на популяционном уровне и молекулярно-генетической идентификации популяций древесных видов растений показана необходимость использовать как минимум двух типов молекулярных маркеров: ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) и SNP (Single Nucleotide Polymorphism). Показано, что восемь изученных древесных видов растений (из родов *Populus*, *Picea*, *Pinus*, *Larix*) характеризуются высокими показателями генетического разнообразия: доля полиморфных локусов (P95) варьировала от 0,700 до 0,930; ожидаемая гетерозиготность (He) – от 0,122 до 0,250. Для каждой из 20 изученных популяций 8 древесных видов растений выявлены идентификационные маркеры и их сочетания; составлены уникальная молекулярно-генетическая формула и штрихкод. Для популяций древесных видов растений обоснована необходимость изучения аллельного состояния генов, вовлеченных в формирование практически значимых признаков, таких как процесс биосинтеза лигнина. Обязательным элементом оценки состояния генофондов популяций является определение нуклеотидных последовательностей генов или их структурных элементов, выявление и биоинформационный анализ SNP-маркеров. Выявлены популяции с типичными и специфическими характеристиками генофондов. Коэффициент генетической оригинальности (КГО) у изученных популяций варьировал от 1,50 до 2,45. Разработана шкала и дана оценка состояния генофондов изученных популяций, приведены научно обоснованные рекомендации по сохранению и использованию генофондов исследованных древесных видов растений с учетом уровней внутри- и межпопуляционного генетического разнообразия. Предложен подход использования древесных видов растений (на примере видов из родов *Populus* и *Picea*) в лесопромышленном комплексе России с учетом их генетического разнообразия. Таким образом, молекулярно-генетический анализ, оценка генетической оригинальности и состояния генофондов популяций на примере восьми древесных видов растений Урала позволили создать надежную модельную систему оптимизации, сохранения и использования генетической компоненты биологического разнообразия растительных сообществ. Получен патент на изобретение РФ № 2012119341 от 11.05.2012 «Способ молекулярно-генетической идентификации популяций древесных видов растений». Работа выполнена в рамках государственного задания на оказание услуг, частично финансируемых Министерством образования и науки РФ из средств федерального бюджета и проекта развития ПГНИУ как национального исследовательского университета.

#### О СОСТОЯНИИ И ПЕРСПЕКТИВАХ ИЗУЧЕНИЯ, ИСПОЛЬЗОВАНИЯ И СОХРАНЕНИЯ ГЕНОФОНДА ЛЕСНЫХ ПОРОД РОССИИ

**Ирошников А.И.**

ФГБУ Всероссийский НИИ лесной генетики, селекции и биотехнологии (Воронеж), Россия

\*e-mail: mail@lesgen.vrn.ru

Преодоление негативного отношения к генетике, насаждаемого в 1930 -1950-х гг. и выполнение заданий по лесовосстановлению вырубок и гарей ценных пород, активизировало деятельность научных организаций страны и отделений ВОГиС по разработке программно-методического обеспечения исследования биоразнообразия лесов и устранения (минимизации) ущерба, нанесенного их генофонду. Лаборатория лесной генетики и селекции ИЛиД АН СССР в 1960-1980-х гг., в рамках комплексного изучения изменчивости сосны, кедра, ели и лиственницы, создала сеть их географических и испытательных культур, архивов клонов (в т.ч. гибридов и редких форм). Исследования подтвердили высокую внутривидовую изменчивость видов и четкую дифференциацию потомств лиственницы сибирской из северной зоны и высокогорий Южной Сибири, а также сосны из островных боров Алтая, Бурятии, Казахстана и Тувы. В

Западном Саяне и в культурах из Алтая (в Дмитровском лесничестве Московской обл.) обнаружены уникальные деревья кедра сибирского с однолетним циклом развития женских шишек без зародышей, характеризующиеся изменчивостью по устойчивости к *Cronartium ribicola*, формированию 6-9 хвойных брахибластов, скоплением ауксбластов в нижней части побегов или же их стерильностью. В географических культурах Бронницкого лесничества Московской обл. выявлены спонтанные гибриды лиственницы с эффектом гетерозиса (часть которых с 1969 г. испытывается в архиве клонов Ужурского лесничества Красноярского края). В 1976 -1982-х гг. отмечена реакция лиственницы на радиоактивное загрязнение в Туве и МНР (резкое сокращение прироста древесины, многократное увеличение числа брахибластов, длительное прекращение формирования макростробилов, массовая гибель от пожаров и «нашествия» шелкопряда в 2000-х годах). Показан спектр изменчивости ели сибирской с добавочными хромосомами, кедра с ускоренным развитием шишек, у многочисленных форм сосны. Подчеркивается актуальность: (1) поиска высокоинформативных генетических маркеров; (2) оценки эволюционно-хозяйственного значения гибридов, редких генотипов и «эффекта основателя»; (3) объективной информации о радиоактивном и химическом загрязнении лесных биогеоценозов; (4) фиксации рефугиумов и циклов активности опасных энтомофагов и фитопатогенов; (5) создания региональных коллекций клонов и целевых промышленных плантаций ценных генотипов. Среди задач ВОГиС приоритетны: (1) объективная характеристика «зигзагов» лесной политики в последнее 300-летие (периодическое проявление «лесоистребительных эпидемий», Крюденер, 1916) и критика дезинформации «О неисчерпаемости лесных ресурсов России и естественном их восстановлении» - «кредо» многих лесопромышленников («лесных шакалов», по Чикилевскому, 1911), несоответствующее Лесоохранительному закону 1888г.; (2) добиться функционирования Проблемного совета по лесной генетике и селекции, утверждения «Концепции долговременной программы генетического улучшения лесов России» и «Положения о сохранении генофонда древесных пород в лесах России», а также отмены Проекта Московской кольцевой автостреды через уникальные объекты Бронницкого лесничества.

#### МУТАЦИИ, ЗАТРАГИВАЮЩИЕ ОКРАСКУ, КАК ВОЗМОЖНЫЕ ЭНХАНСЕРЫ ТЕМПОВ ДОМЕСТИКАЦИИ

**Трапезов О.В. \*, Трапезова Л.И.**

ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия

\*e-mail: trapezov@bionet.nsc.ru

Одним из главных условий промышленной доместикиции пушных зверей при их содержании в неволе является отбор на стрессоустойчивость к антропогенной среде. Этот процесс представляет собой движущий отбор на доместикационное поведение, который возможен благодаря наличию полиморфизма в экспрессии оборонительных реакций на человека у пушных зверей в специализированных фермерских популяциях. Специальные исследования выявили плейотропный эффект влияния мутаций, затрагивающих окраску меха на пенетрантность и экспрессивность доместикационного поведения. У животных с абберрантной окраской волосяного покрова – и у сапфировых норок (a/a p/p), и у пятнистых соболей, доля зверей с доместикационным поведением достоверно выше, а экспрессия самого доместикационного поведения выражена достоверно сильнее. Почему абберрации окраски меха так сильно затрагивают поведение животных? Было показано, что у норок с недоместикационным (агрессивным и трусливым) поведением обнаружен сниженный уровень серото-

нина в гипоталамусе и полосатом теле, а в последней структуре это сочетается и со сниженным содержанием метаболита серотонина – 5-оксииндолуксусной кислоты.

### ПОИСК ЛОКУСОВ ИЗМЕНЧИВОСТИ СКЕЛЕТНЫХ ПРИЗНАКОВ ЛИСИЦ (*VULPES VULPES*), СЕЛЕКЦИОНИРУЕМЫХ ПО ПОВЕДЕНИЮ

*Харламова А.В.* <sup>\*1</sup>, *Chase K.* <sup>2</sup>, *Владимирова А.В.* <sup>1</sup>, *Kukekova A.V.* <sup>3</sup>, *Lark K.G.* <sup>2</sup>, *Трум Л.Н.* <sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>University of Utah (Солт-Лейк-Сити), США;

<sup>3</sup>University of Illinois at Urbana-Champaign (Урбана-Шампейн), США

\*e-mail: kharlam@bionet.nsc.ru

Длительная селекция лисиц на ручное и агрессивное поведение по отношению к человеку, проводимая в ИЦиГ СО РАН, как было показано ранее, привела к коррелированным изменениям целого ряда физиологических, биохимических и морфологических параметров. Уже на ранних этапах отбора были отмечены различия в пропорциях скелета у ручных и агрессивных животных. Для того чтобы идентифицировать в геноме лисицы участки, вовлеченные в контроль этих изменений, нами были созданы гибриды F<sub>1</sub> между исходными популяциями ручных и агрессивных лисиц, которые затем были использованы для получения расщепляющихся поколений путем возвратных скрещиваний F<sub>1</sub> с ручными либо агрессивными родителями, либо скрещиваний гибридов F<sub>1</sub> между собой. Доступность мейотической карты генома лисицы позволяет вести поиск локусов, ответственных за изучаемые признаки. В данном сообщении представлены результаты анализа морфологической изменчивости скелета лисиц, потомков возвратного скрещивания F<sub>1</sub> на ручного родителя. Каждое животное расщепляющегося поколения было рентгеноскопировано в шести стандартных проекциях. С рентгенограмм получены промеры, которые затем были обработаны методом главных компонент (ГК). Значения первых компонент, вносящих наибольший вклад в изменчивость пропорций скелета, использованы как новые фенотипы в дальнейшем анализе. Представители родословных из трех поколений были генотипированы по 320 микросателлитным маркерам. Картирование морфологических локусов, проведенное с использованием анализа ассоциаций для 163 особей поколения бэккроссов, выявило значимые локусы для главных компонент ГК3, ГК4, ГК5 на хромосомах лисицы 1-3,6, 9-14. Годом позже были получены дополнительные бэккроссы на ручного родителя, которые были генотипированы по выборочным микросателлитным маркерам и фенотипированы, как и первый набор бэккроссов. Для них были выявлены локусы изменчивости скелетных признаков на хромосомах 1, 3, 12 и 14, причем локусы на первой и третьей хромосомах локализованы в перекрывающихся интервалах у первого и второго набора бэккроссов, что подтверждает значимость данных участков генома в контроле формирования скелета лисицы. Работа поддержана грантом РФФИ №13-04-00420 и Программой Президиума РАН «Динамика и сохранение генофондов».

### ПРИНЦИПЫ ПОСТРОЕНИЯ ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ СТРУКТУР НА ПРИМЕРЕ ПРИРОДНЫХ И ДОМСТИЦИРОВАННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ СОБОЛЯ (*MARTES ZIBELLINA* L.)

*Каишанов С.Н.* <sup>\*1</sup>, *Свищёва Г.Р.* <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия

<sup>2</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН

(Новосибирск), Россия

\*e-mail: snkashtanov@mail.ru

Изучение принципов построения популяционно-генетической структур – одно из направлений развития теории популяций. Уникальным объектом для этих исследований является соболь (*Martes zibellina* L.), полноценные природные популяции которого занимают огромный ареал, а фермерские популяции прошли начальные этапы доместикиации. Для формирования новой генетической структуры был привлечен генофонд как минимум 8 природных популяций соболя, главным образом, материковых популяций, расположенных на краю (Северный Урал и Сихотэ-Алинь) и в центральной части ареала вида (Восточная Сибирь). Кроме этого, для создания фермерской популяции были завезены животные из популяций с разной продолжительностью изоляции (п-ов Камчатка, о-в Сахалин). Привлечение значительного генетического разнообразия вида обеспечило успех разведения соболя в новых условиях. Уже через 4-6 лет после завоза первых соболей поголовье стало расти за счет потомства, полученного в условиях фермы, а основным методом разведения соболя на первых этапах было скрещивание животных из различных географических регионов. В ходе начальной стадии доместикиации сначала отбирались животные, устойчивые к стрессу и способные размножаться; далее шел отбор уже по ряду количественных признаков. К настоящему времени отбор продолжается около 80 лет (поколений) в уже сложившейся популяции соболя. За этот период поголовье соболя увеличилось до 40 тысяч животных, зарегистрировано две породы, определены селекционные критерии и проведена оценка временного фактора этого процесса. После многолетнего направленного отбора проведен сравнительный анализ состояния генофондов фермерских популяций с популяциями-основателями (анализировалась изменчивость 10 микросателлитных локусов). Выявлены значительные потери генетического разнообразия при адаптации вида в новых условиях: так уровень аллельного разнообразия фермерской популяции за прошедший период снизился в два раза. Выявлены популяционно-основатели, внесшие наибольший вклад в генофонд фермерских популяций. Исследование динамических процессов, протекающих при формировании новой популяции, на фенотипическом уровне показало, что направленный отбор по окраске волосяного покрова, качеству опушения и телосложению соболей привел к снижению изменчивости и консолидации фермерской популяции. Определены генетические критерии новой популяции, учитывающие особенности ее построения (подразделенность, эффективная величина, степень дифференциации, уровень инбридинга и др.). Оценен временной интервал, необходимый для создания популяции. Сравнительный анализ популяций с использованием популяционно-статистических методов позволил выявить особенности формирования генофондов природных и фермерских популяций.

### ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ЛОШАДЕЙ САЯНО-АЛТАЙСКОГО РЕГИОНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЯДЕРНЫХ И МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ДНК-МАРКЕРОВ

*Сулимова Г.Е.* <sup>\*</sup>, *Воронкова В.Н.*

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

\*e-mail: galina\_sulimova@mail.ru

Изучение генетического полиморфизма пород лошадей имеет большое значение для поддержания разнообразия в популяциях, улучшения селекционной работы и определения их происхождения. Особенно важным является исследование аборигенных пород лошадей, имеющих в своем геноме редкие аллели и являющихся выносливыми и хорошо приспособленными к условиям



среды обитания. Цель данной работы состояла в изучении генетического разнообразия шести пород лошадей (*Equus caballus*) монгольской, алтайской, забайкальской, кушумской, бурятской и тувинской пород на основе мультилокусного межмикросателлитного анализа ДНК (ISSR-фингерпринтинга) и анализа нуклеотидной последовательности мтДНК. Для анализа генетического разнообразия популяций лошадей использованы ISSR-маркеры -  $(GAG)_6C$  и  $(ACC)_6G$ . Наиболее высокий уровень генетического разнообразия (по Нею) среди 15 исследованных популяций шести указанных пород лошадей показан для алтайской популяции из хозяйства «Амальдива» и тувинских лошадей из хозяйств «Ямаалыг» и «Кошкорлыг». Сниженный уровень генетического разнообразия отмечен для бурятской, кушумской и алтайской популяции «Чингиз». Определены нуклеотидные последовательности контрольного региона D-петли мтДНК для 142 образцов из 6 выборок лошадей (трех монгольских: из пустыни Гоби, центральной и северной Монголии; тувинской «Арыг-Хем», забайкальской и бурятской). При секвенировании каждую последовательность считывали с обоих концов. В анализе рассматривали нуклеотидные замены, встречающиеся более чем у 4 образцов. Кластерный анализ показал, что отдельно выделяется северный кластер пород – тувинской, забайкальской, северномонгольской и бурятской популяций. Промежуточное положение занимает центральномонгольская популяция и отдельно кластеризуется монгольская популяция из Гоби. На основе нуклеотидных последовательностей, полученных нами и из базы данных (всего 409 лошадей из 28 выборок) построена медианная сеть. Ранее было описано 87 гаплотипов мтДНК лошадей, из которых 48 встречались только у древних лошадей и не были обнаружены у современных. Среди полученных нами образцов было выявлено 13 гаплотипов. Гаплотипы мтДНК, идентичные древним гаплотипам лошадей Китая и Монголии, выявлены среди монгольской, забайкальской и тувинской пород лошадей. В целом показан высокий уровень полиморфизма изученных нуклеотидных последовательностей при сравнении с ранее изученными образцами. Продемонстрирована высокая степень генетического отличия монгольской популяции из Гоби от остальных исследуемых популяций по совокупным данным анализа последовательностей D-петли мтДНК и ISSR анализа, что может быть обусловлено результатом изоляции, искусственного и естественного отбора на фоне специфических условий обитания.

#### ПРОИСХОЖДЕНИЕ РУССКИХ ПОРОД КУР: АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ D-ПЕТЛИ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК

*Галкина С.А.*<sup>\*1</sup>, *Данилова М.И.*<sup>1</sup>, *Машарский А.Э.*<sup>1</sup>, *Мвачаро Й.*<sup>2</sup>, *Дружкова А.С.*<sup>3</sup>, *Коциян А.Р.*<sup>4</sup>, *Пантелеев А.В.*<sup>5</sup>, *Трифонов В.А.*<sup>3</sup>, *Гагинская Е.Р.*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Университет Ноттингема (Ноттингем), Великобритания;

<sup>3</sup>Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>4</sup>Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>5</sup>Зоологический институт РАН (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: svetlana.galkina@mail.ru

Накопленные к настоящему моменты в базах данных последовательности фрагментов D-петли митохондриальной ДНК азиатских, африканских, латиноамериканских пород кур представляют собой ценный ресурс для филогенетических исследований происхождения и расселения *Gallus gallus domesticus*. Генетическое разнообразие традиционных для Европы пород кур на уровне митохондриальной ДНК (мтДНК) малоизучено.

Мы проанализировали филогенетические связи с европейскими и азиатскими породами четырех старинных русских пород: орловская, павловская (3 популяции), русская белая, юрловская голосистая. Последовательность D-петли мтДНК (1231/1232 п.н.) была секвенирована у 48 представителей. По 26 полиморфным сайтам выявлены 15 гаплотипов (RTC - Russian Traditional Chicken): RTC 1-4 (орловская), RTC 5-11 (павловская), RTC 12,13 (русская белая), RTC 14,15 (юрловская). При поиске сходных последовательностей в геномном банке NCBI, 4 последовательности (RTC2, RTC6, RTC9, RTC12) оказались уникальными. Выявлена идентичность гаплотипа RTC3 последовательностям D-петли мтДНК кур пород белый плимутрок и белый леггорн, что может быть результатом скрещивания с птицами фабричного разведения. Было проведено сравнение полученных последовательностей с 40 эталонными последовательностями основных гаплогрупп *G.g.domesticus*, аннотированными в геномном банке. Оказалось, что 77% проанализированных последовательностей принадлежат гаплогруппе E, предположительно возникшей на полуострове Индостан, 8 последовательностей близки гаплотипу A1, встречающемуся у кур восточной Азии. Для более полной реконструкции истории распространения кур по территории Восточной Европы, в анализ были включены «ископаемые» последовательности гипервариабельного района D-петли (250 п.н.), полученные из костей кур, извлеченных при раскопках в Великом Новгороде (Nov) (X-XII вв.), Пскове (Psk) (XIV-XVI вв.) и Санкт-Петербурге (LS) (начало XVII в.). Гаплотипы Nov и LS соответствуют линии мтДНК европейских (венгерских, датских) кур. Гаплотип Psk принадлежит линии C1, характерной для кур Восточной, Южной и Юго-Восточной Азии, что предполагает участие азиатского компонента в формировании популяции распространенных в ту пору местных кур. Сходство последовательностей Psk и RTC4 может свидетельствовать в использовании местных кур в качестве исходного материала при создании орловской породы. Работа выполнена на базе ресурсных центров «ЦКП Хромас» и «Развитие молекулярных и клеточных технологий» Санкт-Петербургского государственного университета.

#### ОСНОВНЫЕ НАУЧНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ ДНК-ТЕХНОЛОГИЙ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ БЕЛАРУСИ

*Михайлова М.Е.*<sup>\*</sup>, *Белая Е.В.*, *Киреева А.И.*, *Тиханович Н.И.*, *Хотляник Н.В.*, *Яхимович А.И.*  
ГНУ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (Минск), Республика Беларусь

\*e-mail: M.Mikhailova@igc.bas-net.by

Поиск новых генетических маркеров продуктивности, проводимый в Беларуси позволяет найти ассоциации между аллельными вариантами генов и хозяйственно-полезными признаками и целенаправленно вести селекцию на выявление и закрепление в популяции ценных аллелей. Интенсивное использование мирового породного генофонда позволили значительно повысить генетический потенциал продуктивности животных. Однако в поголовье накапливается груз вредных рецессивных мутаций. Мутация в гене CD18 (BLAD) впервые была обнаружена у быков голштинской породы, которых широко использовали для улучшения генетического потенциала КРС. В период с 2006 по 2013 гг. нами было проведено ДНК-тестирование на носительство мутации BLAD быков-производителей и быкопроизводящих коров шести областных племпредприятий Беларуси. Показано, что в популяции быков-производителей частота скрытых носителей мутации в гене CD18 в среднем составила 1,3%, а в популяции коров почти в три раза выше – 3,6%. Частота встречаемости мутантного аллеля BLAD в исследованной популяции

быков составила 0,01, коров – 0,02. Особое внимание привлекает группа генов, контролирующей секрецию гормона роста и каскадный запуск последующих метаболических процессов. Определены предпочтительные и альтернативные генотипы для шести полиморфных вариантов генов соматотропного каскада (bPit-1-HinFI, bPit-1StuI, bPrl-RsaI, bGH-AluI, bGHR-Sspl, и bIGF-1-SnaBI) у КРС голштинской и белорусской черно-пестрой пород. У коров белорусской черно-пестрой породы установлена значимая ассоциация с повышенной жирномолочностью для предпочтительных генотипов bIGF-1-SnaBIBB и bGH-AluIVV. Генотип bIGF-1-SnaBIBB также значимо ассоциирован с повышенной белкомолочностью. Практический интерес представляет выявление ассоциации генов сывороточных белков (а-лактальбумина, b-лактоглобулина) с генами каппа-казеина. В этой связи, диагностика полиморфизма гена  $\beta$ LG, в частности обнаружение ценного аллеля  $\beta$ LGB гена бета-лактоглобулина у КРС и выявление племенных животных-носителей данного аллеля является основным направлением в технологии получения высококачественного низкоаллергенного молока. Оценка генетического разнообразия крупного рогатого скота Беларуси показали, что молочные породы (черно-пестрая и голштинская), характеризуются высоким уровнем генетической близости. Рассчитан показатель гетерозиготности популяций, который может служить хорошим ориентиром для дальнейшей селекционной работы с целью недопущения инбридинга в популяциях КРС. Высокий уровень гетерозиготности является хорошим показателем для селекционеров племенных хозяйств и указывает на минимальный уровень инбридинга в популяциях КРС. Разработаны высокочувствительные методы генодиагностики прамирусов лейкоза КРС и иммунодефицита с использованием технологии ПЦР в режиме «реального времени».

#### ВЫВЕДЕНИЕ ТИПА «КАРЕЛЬСКИЙ» В АЙРШИРСКОЙ ПОРОДЕ СКОТА – НОВОЕ СЕЛЕКЦИОННОЕ ДОСТИЖЕНИЕ

**Болгов А.Е.** <sup>\*1</sup>, **Васильева Е.Н.** <sup>2</sup>, **Чекменева Н.Ю.** <sup>2</sup>, **Максимова Л.Р.** <sup>3</sup>

<sup>1</sup>Петрозаводский государственный университет (Петрозаводск), Россия;

<sup>2</sup>Всероссийский НИИ генетики и разведения сельскохозяйственных животных (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>3</sup>Карельская государственная сельскохозяйственная опытная станция (п. Новая Вилга), Россия

\*e-mail: bolg@psu.karelia.ru

Тип «Карельский» выведен в результате более чем 30-ти летней работы ученых, селекционеров, специалистов, руководителей хозяйств. Он создан на основе айрширского скота финского происхождения методом чистопородного разведения с использованием быков финской и отечественной селекции. Подбор быков производился с учетом оценки по качеству потомства, крепости конституции и резистентности. В процессе формирования типа осуществляли как кросс генеалогических групп (в начале работы), так и индивидуальный линейный подбор с учетом племенной ценности производителей, а на последнем этапе – с учетом результативности использованных вариантов подбора, оценки экстерьера дочерей, развития технологических признаков и резистентности к маститу. Одним из главных факторов успеха было использование на всех этапах работы быков все более высокого класса, особенно по обильномолочности. Выявлены особенности генофонда и установлен антигенный профиль типа, определен аллелофонд EAB-локуса групп крови. Генетическим паспортом типа являются аллели: B2, B2O4, B2G2O', B2G2O2G'', O2Y2E3', O2E3'G'', O4, Y2, Y2E3', Y2I'E3'G'Q', Y2I'', Y2E3'J'G''. Хозяйствами-оригинаторами являются племенные заводы «Мегрега» и

«Ильинское», поголовье скота нового типа, на которых составляет 5170 голов, в том числе около 2300 коров. Тип отличается высокими конкурентными продуктивными технологическими и экономическими качествами. Для животных типа характерна обильномолочность, средняя живая масса, высокий уровень развития технологических признаков, хорошая приспособленность к условиям как привязного, так и беспривязного содержания, пригодность коров к машинному обслуживанию и промышленной технологии, крепкая конституция, хорошее здоровье, повышенная резистентность к маститу. Удойность находится на уровне 8000 кг молока с 4,1 % жира. В 2010 году удой по первотелкам составил 7643 кг молока с 4,08 % жира, по взрослым коровам – 8244 кг и 4,11 %, по всему стаду – 7948 и 4,10 % соответственно. В условиях интенсивного использования и высокого уровня кормления (более 8500 к.ед.) удой составлял 10557 кг молока с 3,87 % жира против 10685 кг и 3,62 % соответственно у голштинизированных холмогоров. Молоко коров типа «Карельский» отличается высокими физико-химическими, биологическими и технологическими свойствами. Коровы типа отличаются экономичностью (производство более 1300 кг молока на каждые 100 кг живой массы), нормальной плодовитостью (интервал между отелами 412 дней, в Финляндии – 411). Средний суточный удой первотелок равен 26,2 кг, индекс вымени 44,2 %, интенсивность доения 2,21-2,29 кг/мин. Количество соматических клеток (КСК) в молоке низкое – 168,7-209,6 тыс./см<sup>3</sup> (требования высшего сорта не более 200 тыс./см<sup>3</sup>). Хозяйства-оригинаторы типа выращивают племенной молодняк для ремонта собственных стад и продают его хозяйствам девяти регионов России. За последние 5 лет реализовано 1266 нетелей и телок. Предложены пути формирования новой генеалогической структуры типа, представленной 13-ю линиями и родственными группами. Определены главные признаки и требования к ним при отборе коров в племядро и быкопроизводящую группу. Госсорткомиссия РФ зарегистрировала тип «Карельский» в Государственном реестре охраняемых селекционных достижений с приоритетом от 16.03.2012 года. Патентообладателями являются Петрозаводский государственный университет, Карельская государственная сельскохозяйственная опытная станция, ВНИИ генетики и разведения сельскохозяйственных животных, ОАО Племсовхоз «Мегрега», ОАО «Племенное хозяйство «Ильинское».

#### МИКРОБИОТА ЧЕЛОВЕКА, ПРОБИОТИЧЕСКИЙ КОМПОНЕНТ: СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ И ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ

**Даниленко В.Н.**

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

e-mail: valerid@vigg.ru

Микробиота желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) рассматривается сегодня как новый орган человека ответственный за становление и поддержание иммунной системы, а также общий гомеостаз человека, включая его поведение. Установлена строгая корреляция между композицией микробиоты и многими заболеваниями: метаболическим синдромом, нейродегенеративными, онкологическими и др. Важнейшим компонентом микробиоты ЖКТ являются пробиотические бактерии родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, которые в последнее время интенсивно продвигаются как фармпрепараты, а ряд их генов рассматривается в качестве функциональных биомаркеров для ранней диагностики различных заболеваний. В качестве функциональных биомаркеров нами разрабатываются глобальные регуляторные гены: систем токсин-антитоксин II типа (ТА) и серин-треониновые протеинкиназы (СТПК). С использованием генов ТА систем разработаны подходы метагеномного анализа, которые могут быть использованы для штаммовой диагностики индивидуального

состава образцов ЖКТ здоровых и больных различными заболеваниями на ранних стадиях. Установлена модулирующая активность нейротрансмиттеров (допамина и серотонина) на экспрессию СТПК бифидобактерий. Изучаются функции ТА и СПТК в коммуникации с организмом человека с использованием модельных систем различных линий клеток (HT-29, TNP-1 и др.). Установлена селективность иммуномодулирующего действия различных штаммов *B. longum* и *L. ramosu*, с использованием в качестве маркеров интерлейкинов 6,8,10 и фактора некроза опухоли альфа осуществлен сравнительный геномный анализ 4 референтных штаммов *B. longum* и 6 штаммов *L. ramosu* с целью идентификации уникальных пробиотических генов характерных для различных этно-региональных популяций жителей России. Изучается функции обнаруженных уникальных генов важные для здоровья Российских граждан. Разработаны методы генетического анализа (трансформация, клонирование, генетический нокаут) применительно к штаммам бифидокактерий и лактобацилл продвигаемым как фармобактерии для лечения метаболического синдрома и нейродегеративных заболеваний.

#### LUX-БИОСЕНСОРЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КИНЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ SOS-ОТВЕТА И ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА ПРИ ДЕЙСТВИИ НА КЛЕТКИ *ESCHERICHIA COLI* КВИНОЛОНОВ – ИНГИБИТОРОВ ДНК-ГИРАЗЫ

**Котова В.Ю., Манухов И.В., Завильгельский Г.Б. \***

ФГУП Государственный НИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов (Москва), Россия

\*e-mail: zavilgel@genetika.ru

Квинолоны ингибируют ДНК - гиразу, но индуцируемая в результате деградация хромосомной ДНК определяется сложным процессом совместного действия гиразы и гидроксил-радикала  $OH^{\cdot}$ . Для количественной оценки стрессовых реакций в бактериальной клетке в настоящей работе используются специфические индуцируемые lux-биосенсоры, бактерии *Escherichia coli*, содержащие гибридные плазмиды pColD::lux, pSoxS::lux, pkatG::lux. Показано, что квинолоны индуцируют в клетках *Escherichia coli* SOS-ответ, а также окислительный стресс и образование супероксид-аниона  $O_2^{\cdot-}$ . Определены кинетические параметры SOS-ответа и окислительного стресса в зависимости от концентрации квинолонов, налидиксовой кислоты и норфлоксацина. Показано, что образование супероксид аниона происходит одновременно с SOS-ответом. Мутантный штамм *E. coli sodA sodB*, не содержащий активных форм супероксид-дисмутаза, характеризуется повышенной резистентностью по сравнению с клетками дикого типа по отношению к квинолонам. Предполагается, что летальное действие квинолонов на бактериальную клетку связано с превращением супероксид-аниона в перекись водорода  $H_2O_2$ , проводимого супероксид-дисмутазами SodA и SodB, с последующей реакцией Фентона и формированием токсичного гидроксил-радикала  $OH^{\cdot}$ .

#### ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ КОЛЛЕКЦИИ ЭКСТРЕМОФИЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ИЦиГ СО РАН

**Брянская А.В. \*, Розанов А.С., Малун Т.К., Старостин К.В., Демидов Е.А., Шеховцов С.В., Мещерякова И.А., Горячковская Т.Н., Банникова С.В., Сушенцева Н.Н., Демидова Е.А., Голубева Е.С., Уварова Ю.Е., Пельтек С.Е.**  
ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия

\*e-mail: alla@bionet.nsc.ru

Коллекции микробных культур в настоящее время являются

одним из эффективных способов изучения и сохранения микробного разнообразия. Такие коллекции находятся в эпицентре научных исследований, предоставляя не только культуры, но и значительные объемы полезной научной информации. Микробиологические коллекции являются богатейшим ресурсом для биотехнологии. Коллекция экстремофильных микроорганизмов ИЦиГ СО РАН в настоящее время насчитывает более 1500 культур, из которых более 70% составляют чистые культуры (штаммы) микроорганизмов. Микроорганизмы коллекции выделены преимущественно из экстремальных экосистем Курило-Камчатского вулканического пояса, Северного Прибайкалья, Восточных Саян и Новосибирской области. На первом этапе работы с коллекцией был использован комплекс методов по подбору оптимальных условий выделения и культивирования представителей разных экологических и физиологических групп микроорганизмов; подбору методов сохранения их жизнеспособности. Проведено изучение разнообразия природных микробных сообществ экстремальных экосистем при помощи методов параллельного ампликон секвенирования варибельного участка V3-V5 гена 16S рРНК и метагеномного секвенирования суммарной ДНК сообществ. Фенотипическая характеристика штаммов проводится с использованием морфофизиологических и биохимических методов. Точная филогенетическая идентификация полученных штаммов проводится при помощи анализа 16s рРНК. Полногеномное секвенирование ряда штаммов коллекции проведено при помощи методов параллельного секвенирования. В работе используются локальные версии программ пакета BLAST (<ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>). Для штаммов коллекции проведена процедура биотипирования (идентификация) на основании данных MALDI-TOF масс-спектрометрии. По результатам биотипирования формируется собственная база данных белковых профилей микроорганизмов коллекции ИЦиГ СО РАН. Протеомными методами, в частности, методом двумерного электрофореза в полиакриламидном геле проводится детектирование дифференциальной экспрессии белков в культурах микроорганизмов. Применение масс-спектрометрии сверхвысокого разрешения позволяет идентифицировать весь пул секретируемых белков, а также конкретные метаболиты. Последующий биоинформационный анализ полученных данных позволяет выявить основные ферменты, а также метаболиты исследуемых процессов. Проводится скрининг перспективных штаммов коллекции для выявления возможности их трансформации. Проводится поиск мобильных элементов и плазмид, пригодных для создания систем введения экзогенной ДНК в геном микроорганизма; изучение системы рестрикции-модификации выбранных микроорганизмов; создание челночных векторов. На основании проводимых исследований осуществляется оценка перспективности использования штаммов в биотехнологии и разрабатываются научно-практические рекомендации по их использованию; проводится создание базы данных о свойствах выделенных штаммов.

#### С7-01. К 40-ЛЕТИЮ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ НОМЕНКЛАТУРЫ ГЛИАДИНОВ

**Копусь М.М.**

Всероссийский НИИ зерновых культур им. И.Г. Калининко (Зерноград), Россия

e-mail: mkopus@gmail.com

К началу 1975 года уже был известен генетический контроль компонентов глиадинов электро-форетических спектров некоторых сортов мягкой пшеницы. Появились первые сведения о сцепленном наследовании некоторых компонентов спектра. Однако логической генетической номенклатуры блоков (аллелей) глиадинов и системы классификации внутривидового



полиморфизма по этим белкам не было. Идею генетической номенклатуры блоков компонентов глиадинов предложил аспирант Копусь М.М. при анализе гибридов F<sub>2</sub>-F<sub>4</sub> сортов Безостая 1 X Днепровская 521 в августе 1975 года. Ее поддержали руководители Созинов А.А. и Попереля Ф.А., что было отражено в статье журнала Доклады ВАСХНИЛ №11, с. 10-14 (1975). Генотип глиадина сорта мягкой пшеницы можно было выразить из шести цифр: Безостая 1 – Gld 1A4, 1B1, 1D1, 6A1, 6B1, 6D1 (4.1.1.1.1.1), Днепровская 521 (Gld 1.2.1.1.1.1) и их рекомбинантные гибриды: Gld 4.2.1.1.1.1 и Gld 1.1.1.1.1.1. На гибридах этой комбинации была также установлена четкая связь блоков компонентов с качеством муки: блоки Gld 1A1 и Gld 1B2 – его снижают, а Gld 1A4 и Gld 1B1 – повышают. Этот подход и позволил затем составить каталоги идентифицированных блоков глиадинов как на КГ, так и на ПААГ, а также шкалу для селекционной оценки генотипов пшеницы по глиадинам (качество, морозостойкость). В соответствии с международной номенклатурой, принятой значительно позже, Метаковский Е.В. в 1991 году внес изменения в редакцию блока: номер хромосомы обозначают номером локуса, а номер блока заменен на буквенное обозначение (J.Genet. & Breed. 45: 325-344(1991)). В таких вариантах генетический принцип номенклатуры глиадинов продолжает служить селекции и семеноводству пшеницы сегодня.

#### **C7-02. ДИПЛОИДНО-ТЕТРАПЛОИДНЫЕ СКРЕЩИВАНИЯ КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПСЕВДОГАМНОГО АПОМИКСИСА**

*Цветова М.И. \*, Эльконин Л.А.*

*ГНУ НИИ сельского хозяйства Юго-Востока Россельхозакадемии (Саратов), Россия*

\*e-mail: ravichaf@mail.ru

В практике селекционной работы, так же как в ходе генетических исследований, нередко бывает необходимым получение гибридов между растениями, различающимися уровнем плоидности. Успех таких скрещиваний лимитируется соотношением чисел хромосом материнской и отцовской форм в эндосперме формирующихся семян: у подавляющего большинства видов покрытосеменных жизнеспособные семена развиваются при сочетании в эндосперме двух наборов материнских и одного набора отцовских хромосом. У злаков при нарушении такого соотношения родительских геномов развиваются шуплые зерновки с неразвитым эндоспермом, способные к прорастанию лишь в редких случаях. В наших экспериментах 12 диплоидных линий кукурузы, для которых характерна зеленая окраска проростков, были опылены автотетраплоидными линиями Тетра-Парий и Черная тетра, несущими доминантные гены антоциановой окраски проростков, причем для последней характерна окраска не только проростков и взрослых растений, но и черная либо темно-бордовая окраска алейронового слоя эндосперма. Это позволяет выделить зерновки с гибридным эндоспермом без использования трудоемких и дорогостоящих молекулярно-генетических методов. В контроле на изолированных неопыленных початках не обнаружено ни одной зерновки. На опыленных початках всех исследованных линий завязалось от 1 до нескольких десятков нормальных зерновок. Большинство развившихся из них растений, были материнского типа. К примеру, у линии Коричневый маркер из 69 опыленных початков на 28 отмечено от одной до нескольких десятков зерновок. Из 106 растений, выращенных в поле, 3 были диплоидными гибридами, а остальные имели материнский фенотип. Диплоидные гибридные растения возникли, по-видимому, в результате оплодотворения гаплоидных зародышевых мешков гаплоидными пыль-

цевыми зернами, формирующимися изредка у автотетраплоидных линий. Зерновки, давшие матроклинные растения, развились, очевидно, из нередуцированных зародышевых мешков за счет псевдогамного апомиксиса, при котором формируются партеногенетический диплоидный зародыш и гексаплоидный эндосперм с нормальным соотношением родительских геномов. В скрещивании линии В-47 с линией Тетра-Парий из 16 опыленных початков 13 содержали от одной до 18 зерновок. 26 растений, выращенных из этих зерновок, оказались тетраплоидными гибридами. Очевидно, такое потомство возникло при оплодотворении нередуцированных зародышевых мешков диплоидными пыльцевыми зернами тетраплоидного родителя. Учитывая, что в потомстве от скрещивания этой линии с тетраплоидами не было выявлено ни одного диплоидного растения материнского типа, можно предполагать, что данная линия способна формировать нередуцированные половые зародышевые мешки.

#### **C7-03. ДВОЙНЫЕ ГЕНОМЫ ДИПЛОИДНЫХ ВИДОВ КАК ОСНОВА МАКРОЭВОЛЮЦИОННЫХ ПРЕОБРАЗОВАНИЙ ПШЕНИЦЫ**

*Романов Б.В.*

*Донской государственный аграрный университет*

*(Ростов-на-Дону), Россия*

\*e-mail: triticumrbw@mail.ru

При образовании аллополиплоидных форм растений, кариотипы диплоидных видов в составе сложного генотипа, как правило, сохраняют свою самостоятельность даже при длительной интеграции их в общем кариотипе аллополиплоида. Более того в генотип сложного аллополиплоидного, т.е. вторичного вида, геном входит уже как генетическая единица, интегрированная в полигеном аллополиплоид, но сохраняющая коренные свойства генома исходного диплоидного вида. Используя двойной или диплоидный геном, входящий в генотип аллополиплоида, как генетическую единицу, которая вносит определенный соразмерный вклад или фенотип (диплоидный геном – фенотип) в тот или иной «общий» количественный признак полиплоидной пшеницы, проведено исследование формирования, сложных хозяйственно ценных признаков по мере усложнения геномного состава пшеницы в филогенезе. Для определения вкладов диплоидных геномов в количественный признак полиплоидного вида использовали, в качестве фенотипических маркеров, показатели диплоидных растений-источников исходных геномов, проводя сравнительный анализ строго придерживаясь схемы происхождения полиплоидных пшениц. Было доказано, что диплоидные геномы ведут себя как целостные генетические единицы, определяя соответствующий дозированный характер изменения сложных количественных признаков полиплоидной пшеницы в филогенезе.

#### **C7-04. ЭВОЛЮЦИЯ ПРИЗНАКОВ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ В ПРОЦЕССЕ СЕЛЕКЦИИ**

*Захаров В.Г.*

*ГНУ Ульяновский НИИСХ Россельхозакадемии (Ульяновск), Россия*

e-mail: ulniish@mail.ru

Изучение эволюции хозяйственно-ценных признаков в процессе селекции и сортосмены является одним из методов формирования программ создания адаптивных сортов. Проведен анализ сортосмены яровой мягкой пшеницы в Ульяновской области (13 сортов), которая с учетом типов сортов, использования исходного материала при их создании и продолжительности

ти возделывания в производстве мы разделили на 6 периодов. Исследования показали, что урожайность сортов за каждый период сортосмены возрастала на 2,54 ц/га. Рост урожайности сопровождался изменением элементов ее структуры. С каждым периодом сортосмены на 0,39 см увеличивалась длина колоса, возрастала на 0,13 г масса колоса и на 1,1 шт. прибавлялось количество зерен в колосе. Наибольшими показателями отличаются сорта последних периодов сортосмены. Масса зерна с главного побега имеет большое значение в формировании продуктивности растения. Сортосмена обеспечивала увеличение на 0,08 г массы зерна с главного побега. Масса 1000 зерен является одним из наиболее стабильных признаков, характеризующих сорт. Вместе с тем, в острозасушливые годы крупнозерные сорта, как правило, формируют менее выполненное зерно. В результате исследований установлено, что за счет сортосмены масса 1000 зерен увеличилась на 1,36 г. Корреляционный анализ позволил нам определить взаимосвязь урожайности с элементами структуры. В среднем за годы исследований она находилась в высокой достоверной связи с длиной колоса ( $r=0,66^*$ ), массой колоса ( $r=0,86^{**}$ ), количеством колосков в колосе ( $r=0,80^{**}$ ), количеством зерен в колосе ( $r=0,80^{**}$ ), массой зерна главного побега ( $r=0,83^*$ ), массой 1000 зерен ( $r=0,70^*$ ). Сорта первых периодов сортосмены характеризуются слабой устойчивостью к полеганию, последних - наибольшей. При этом высота растений изменилась незначительно, а устойчивость к полеганию возросла на 0,694 балла. Приоритетными направлениями в селекционной работе является селекция на повышение качества в сочетании с высокой урожайностью зерна. Однако, как показывают результаты исследований, это с точки зрения практической реализации является достаточно сложной задачей. С каждым периодом сортосмены происходит некоторое снижение содержания протеина и клейковины в зерне, при том, что валовый сбор увеличивается. Средняя разница в содержании протеина между 1 и 6 периодом составила -1,0%, а по содержанию клейковины -1,47%, соответственно.

#### **C7-05. МОДИФИКАЦИЯ МЕТОДА ТЕРМИЧЕСКОЙ КАСТРАЦИИ ДЛЯ ГАМЕТНОЙ СЕЛЕКЦИИ**

**Боровик А.Н.**

*ГНУ Краснодарский НИИ сельского хозяйства  
им. П.П. Лукьяненко Россельхозакадемии (Краснодар), Россия  
e-mail: alex-borovik@mail.ru*

Создание новых сочетаний генов осуществляется посредством гибридизации. Для самоопыляющихся растений гибридизация не возможна без проведения предварительной кастрации. Однако качественное проведение кастрации допустимо в ограниченный промежуток времени и требует специальных навыков и больших затрат труда. Поэтому исследователи не оставляют попыток упростить и механизировать этот процесс. Среди прочих методов был разработан и апробирован, хотя и не получил большого распространения, метод термической кастрации, основанный на разной устойчивости мужского и женского гаметофитов к температурному стрессу. Так для растений пшеницы погружение незацветших колосьев в горячую воду с температурой 48°C с экспозицией 2 минуты позволяет практически полностью стерилизовать мужскую часть цветка, не затронув женской. Проверка качества получаемых гибридов основывается на контроле ярко выраженных пар признаков: рецессивной природы у материнского растения и доминантного у отцовского. Применение метода термической кастрации позволяет увеличить производительность и количество получаемых гибридных семян. Одним из недостатков этого метода является «засорение» гибрида самоопыленными растениями, количество которых варьирует от 0 до 30%, (составляя в сред-

нем 5-10%), что сопряжено с необходимостью их контроля в гибриде. Этот возможный брак при детальной оценке оказался ценным исходным селекционным материалом. По-видимому, на фоне термического воздействия, в мужском гаметофите происходит искусственный (гаметный) отбор более стойких к абиотическим стрессам пыльцевых зерен, причем этот отбор может быть более эффективен, если применяется на фоне генетического полиморфизма ранних поколений гибридов. Однако и в более поздних поколениях фенотипически константных линий на фоне термической кастрации нам удалось отобрать ценные самоопыленные формы. Такие формы мы предлагаем называть «термит». Так один из «термитов» озимой шарозерной пшеницы (*T. sphaerococcum Perc.*) стабильно и достоверно превосходил по продуктивности исходную линию. По результатам изучения и государственного испытания эта форма стала сортом с названием Пасковья и сейчас включена в Государственный Реестр селекционных достижений и внедряется в производство. Термическая кастрация может стать фоном отбора форм склонных к апомиктическому размножению.

#### **C7-06. СЕЛЕКЦИОННАЯ ЦЕННОСТЬ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ПРИ СОЗДАНИИ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ ТВЕРДОЙ ОЗИМОЙ**

**Мудрова А.А. \*, Яновский А.С.**

*ГНУ Краснодарский НИИ сельского хозяйства  
им. П.П. Лукьяненко Россельхозакадемии (Краснодар), Россия  
\*e-mail: wheatdep@mail.ru*

Наличие, степень изученности и создание нового исходного материала всегда являются приоритетными в селекции сельскохозяйственных растений. Анализируя результаты нашей селекционной работы, мы установили, что основу селекции на ранних этапах составили сорта озимой твердой пшеницы Харьковская 1, Харьковская 909, Новомичуринка (Украина), яровой твердой Овиачик 65 (Мексика), озимой мягкой Краснодарский карлик 1. На базе их генетической плазмы получены все сорта и перспективные селекционные линии нашей селекции. В дальнейшем, по мере создания собственного исходного материала и новых достижений в области селекции, в скрещиваниях использовался новый исходный материал. В селекции сортообразующей способностью называют интегральную генетическую природу родительской формы, которую получают при анализе многолетних данных селекционного изучения гибридного материала. Сортообразующая способность проявляется в количестве созданных с участием этого родителя конкурентоспособных селекционных форм и сортов. Для оценки селекционной ценности сортов, вовлекаемых в гибридизацию, нами был применен индекс parental value – PBV (%), предложенный В.Ю. Анощенко. Он основан на соотношении количества комбинаций, прошедших в следующий этап селекционного цикла к общему количеству комбинаций, созданных с участием данного родителя, в селекционных питомниках. За период с 1991 по 2009 год нами проведено 2071 скрещивание, где в качестве одной из родительских форм использовали 368 образцов твердой или мягкой пшеницы. Рассчитав индекс PBV (%) нами установлено, что высокой сортообразующей способностью отмечены сорта Алена (9,5%) собственной селекции, Алый парус (4,6%), Парус (4,3%) селекции Украины. Доля селекционных линий, полученных с участием этих сортов, в конкурсном сортоиспытании под урожай 2014 года составила более 60%. На базе сорта Алена созданы сорта Золотко, Соло, Круча (Краснодарский НИИСХ). Ретроспективный анализ результатов селекции сортов пшеницы твердой озимой в Краснодарском НИИСХ им. П.П. Лукьяненко позволил определить вектор направленности селекционных работ по созданию сортов этой культуры для условий

Краснодарского края. Доминирующим направлением должно быть улучшение их адаптивности по комплексу признаков, в том числе по продуктивности, устойчивости к стрессорам при сохранении достигнутых результатов по зимостойкости и качеству зерна. Будут расширены и углублены исследования, направленные на поиск новых доноров и источников селекционно-ценных признаков.

#### **С7-08. ХИМИЧЕСКИЙ МУТАГЕНЕЗ И А. РАПОПОРТА В СОЗДАНИИ ПРИЗНАКОВ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИХ ВЫСОКИЕ ХЛЕБОПЕКАРНЫЕ СВОЙСТВА**

Эйгес Н.С.<sup>1</sup>, Волченко Г.А. \*<sup>1</sup>, Волченко С.Г., Донец Н.В. <sup>2</sup>, Кузнецова Н.Л.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup> ООО АгроСоюз Спасск (Рязанская область), Россия;

<sup>3</sup> ФГБУН Главный ботанический сад им Н.В. Цицина (Москва), Россия

\*e-mail: volchenkos@mail.ru

В начале XX века Россия занимала одно из первых мест в мире по урожаям и качеству зерна пшеницы, в том числе озимой, главным образом за счет технологий возделывания. В настоящее время задача состоит в восстановлении былой значимости пшеницы, но уже во главу угла ставятся генетико-селекционные достижения при создании сортов, обладающих упомянутыми признаками. Одним из высокоэффективных методов для достижения этой цели является метод химического мутагенеза, а также удачное сочетание его с традиционными методами селекции. Отличительные положительные черты метода химического мутагенеза при создании исходного материала и сортов с высокой урожайностью и высокими хлебопекарными свойствами представляют собой новизну и состоят в следующем. На основе множественных мутаций: а) Частое возникновение мутантов с данными признаками – до 30% случаев, по отношению ко всем проанализированным хемомутантам коллекции; б) Длительная сохранность признака высокого качества (вот уже в течение 20-ти лет); в) Охват положительными мутациями многих параметров качества и элементов структуры урожая; г) Хлебопекарные свойства и урожай более определяются генотипом и менее внешними условиями, что определяет стабильность в проявлении этих свойств и их длительную сохранность; д) Ослабление или снятие некоторых генетических барьеров, определяемых эволюционно сложившимися корреляционными связями между признаками, в том числе отрицательной связью между продуктивностью (урожайностью) и хлебопекарными свойствами. Это ослабление корреляционной связи позволило получить хемомутантные сорта и образцы, обладающие комплексами свойств, определяющих высокую урожайность и высокое качество в одном сорте. Такое сочетание наблюдается, например, у наших хемомутантных сортов Имени Рапопорта, Сибирская Нива, Беседа, Солнечная и у ряда перспективных хемомутантных образцов. Средние многолетние оценки хлебопекарного качества составляют: 4,4 (хор) – 4,5 (отл.) – 4,7 (отл.) – 5,0 (отл.) баллов против 3,7 (вполне удовл.) – 4,1 (хор.) баллов у стандартного немутантного сорта Московская 39, который не отличается стабильностью данных признаков и ослаблением нежелательной связи между этими признаками.

#### **С7-09. КАЧЕСТВО ЗЕРНА ТЕТРАПЛОИДНОГО ВИДА TRITICUM CARTHLICUM NEVSKI. В УСЛОВИЯХ ЛЕСОСТЕПИ ЗАУРАЛЬЯ**

Тоболова Г.В. \*, Асташева Н.А.

ФГБОУ ВПО Государственный аграрный университет Север-

ного Зауралья (Тюмень), Россия

\*e-mail: tgv60@mail.ru

Содержание белка, количество и качество клейковины являются одними из самых важных показателей качества зерна, которые определяют его питательную ценность и продуктов переработки. Большими потенциальными возможностями повышения содержания белков и улучшения клейковины обладают дикорастущие и культурные сородичи мягкой пшеницы. Среди представителей рода *Triticum* L. по комплексу хозяйственно-ценных признаков и свойств, для лесостепной зоны Зауралья выделяется тетраплоидный вид *T. carthlicum* Nevski. (= *T. persicum* Vav. ex Zhuk.). Исследования карталинской пшеницы по основным агрономическим признакам проводились с 1992 года на опытном поле ГАУ Северного Зауралья, лаборатории качества зерна и лаборатории сортовой идентификации семян. В результате были выделены сортообразцы карталинской пшеницы достоверно превысившие за годы исследований стандартные сорта мягкой пшеницы по содержанию белка в зерне. Это К-13768 (var. *rubiginosum*, Армения) – 18,3% (CV = 16,9%), К-7882 (var. *persicum*, Грузия) – 18,1% (CV = 34,1%), К-32507 (var. *persicum*, Дагестан) – 17,5% (CV = 10,3%), К-17581 (var. *stramineum*, Армения) – 17,3% (CV = 25,5%). Количество сырой клейковины варьировало у сортообразцов от 39,8% (CV = 9,1%) у К-32496 (var. *persicum*, Дагестан), К-7887 (var. *persicum*, Армения) – 38,7 (CV = 16,3%), К-32484 (var. *persicum*, Дагестан) – 35,8 (CV = 13,2%) до 34,9% (CV = 14,7%) у К-32487 (var. *persicum*, Дагестан). Однако, как показали исследования, качество полученной клейковины соответствовало в основном III группе, а у некоторых сортообразцов была неудовлетворительно слабой. Сравнительный анализ электрофоретических спектров глиадинов зерновок карталинской пшеницы показал, что наличие в спектре 1, 6, 19, 22 и 23 компонентов маркировало генотипы с повышенным содержанием белка в зерне. Содержание белка у сортообразцов К-7890 (var. *persicum*, Грузия) и К-18621 (var. *stramineum*, Армения) достоверно превышало среднестатистический показатель на 0,6-2,1%. Сортообразцы К-32496 (var. *persicum*, Дагестан), К-7887 (var. *persicum*, Армения) и К-27490 (var. *rubiginosum*, Грузия), имевшие в электрофореграммах группу компонентов 11, 16 и 23 отличались от других и от стандарта увеличенным на 3,8 % ( $r=0,72$ ) количеством клейковины в зерне. Выделенные по качеству зерна и ряду других показателей сортообразцы карталинской пшеницы были включены в межвидовые скрещивания с мягкой пшеницей и твердой.

#### **С7-10. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ПО АГРОНОМИЧЕСКИ ВАЖНЫМ ПРИЗНАКАМ СРЕДИ СОРТОВ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ, ВОЗДЕЛЫВАВШИХСЯ В СИБИРИ В XX ВЕКЕ**

Морозова Е.В. \*, Пшеничникова Т.А., Симонов А.В., Шукина Л.В., Чистякова А.К., Хлесткина Е.К.

ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия

\*e-mail: emorozova@bionet.nsc.ru

Целью данной работы была оценка генетического разнообразия агрономически важных признаков в двух модельных группах сортов яровой мягкой пшеницы отечественной селекции. Группы были сформированы по времени создания сортов: с 1911 по 1960 гг. – сорта, преимущественно созданные методом отбора («стародавние» сорта), и с 1961 г. по 2006 г. – различными методами гибридизации («современные» сорта). Оценивали фенотипические и генотипические особенности



групп сортов. Для этого изучали: некоторые технологические показатели качества зерна и муки, признаки структуры урожая, длительность фаз развития растений, а также аллелизм по некоторым микросателлитным маркерам. Данные, полученные из полевых вегетаций за несколько лет, обрабатывали методами многомерной статистики. Между модельными группами «стародавних» и «современных» сортов выявлены достоверные отличия по изученным признакам. Группа «современных» сортов оказалась обладателем более высокой силы муки, большей упругости теста, большей растяжимости теста, большей массы 1000 зерен, более короткого стебля, большего веса зерна с главного колоса, большим диаметром частиц муки. «Стародавние» сорта обладают достоверно более высоким сырой клейковины в зерне, более высоким количеством побегов, более высоким числом зерен со вторичных побегов, а также являются более скороспелыми. Изученные в данной работе сорта ранее были охарактеризованы по аллельному состоянию микросателлитных маркеров, что позволило провести корреляционный анализ. Частота встречаемости определенных аллелей оказалась связана с различными уровнями проявления агрономически важных признаков. В частности, выявлена достоверная корреляция высокого содержания сырой клейковины в зерне (35 – 40,4%) с микросателлитными маркерами на хромосомах 7A и 2D. На хромосоме 2D аллель маркера *Xgwm0261* длиной 185 п.н., был ассоциирован с высоким содержанием клейковины в зерне. Аналогичная ассоциация была обнаружена с аллелем маркера *Xgwm0631* длиной 200 п.н. на хромосоме 7A. Оба аллеля одновременно были обнаружены только у «стародавних» сортов Сибирка 1818 и Цециум 111, которые обладали самыми высокими показателями содержания сырой клейковины в зерне. Аллель маркера *Xgwm0357* длиной 119 п.н. в хромосоме 1A был ассоциирован с низким содержанием сырой клейковины в зерне (около 27,7%). Данный аллель содержали четыре сорта из группы «современных» сортов. Таким образом, группы сортов обладали различными наборами аллелей молекулярных маркеров, связанных с хозяйственно ценными признаками. В селекционный период с 1960 г. по 2006 г. в создаваемых сортах снизилось содержание сырой клейковины и количество продуктивных побегов. Сорта «стародавней» селекции могут быть использованы в качестве доноров хозяйственно полезных признаков побегообразования, высокого содержания сырой клейковины в зерне и скороспелости.

#### **С7-11. КОМБИНАЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ ТВЕРДОЙ ОЗИМОЙ ПО ПРИЗНАКУ «ВЫСОТА РАСТЕНИЙ»**

***Яновский А.С., Мудрова А.А. \****

*ГНУ Краснодарский НИИ сельского хозяйства Россельхозакадемии (Краснодар), Россия*

\*e-mail: wheatdep@mail.ru

Высота растений вносит определенный вклад в реализацию потенциала продуктивности сорта, оказывая влияние на устойчивость к полеганию, определяет его технологичность. Выявление носителей ценных аддитивных комплексов генов, определяющих высоту растения наиболее надежно на основе общей и специфической комбинационной способности. Для их оценки нами использован метод В.А. Griffing. В исследовании были включены сорта, различающиеся по высоте и числу контролируемых ее генов, гибриды прямых и реципрокных скрещиваний. Нами установлено, что средний квадрат ОКС больше среднего квадрата СКС, что говорит о контроле признака «высота растения» аддитивно-доминантной генетической системой. При аддитивной модели генотипическая

варианса только аддитивная и фенотипические выражения величины признака наиболее близко отражают генотипические. При аддитивном эффекте можно отбирать по фенотипу с достаточно высокой точностью соответствующие генотипы в ранних поколениях. Индивидуальное сравнение ОКС выявило наличие существенных различий в изучаемом наборе сортов. Эффекты ОКС варьировали от -12,58 до 25,97. Высокой комбинационной способностью по снижению высоты растений характеризовались сорта Новинка 5 (-12,58), Крупинка (-12,29), средней – Прикумская 142 (-7,94) и Леукурум 21 (-4,53). Для завершения разбора схемы статистического анализа комбинационной способности, нами был проведен расчет специфической комбинационной способности гибридов  $F_1$ . Анализируя константы СКС, следует отметить, что в большей части гибридов на признак «высота растения» оказывали влияние неаддитивные взаимодействия генов (их константы значительно отличались от нуля). Это свидетельствует о превалировании генов с доминантными и, возможно, эпистатическими эффектами. Так, у гибридов Новинка 5/Краснодарская 1, Новинка 5/Кристалл 2, Крупинка/Краснодарская 1, Леукурум 21/Краснодарская 1, Леукурум 21/Кристалл 2, Прикумская 142/Краснодарская 1, Прикумская 142/Кристалл 2 за счет неаддитивного взаимодействия генов высота растений увеличилась от 2,9 до 9,9 см, а в комбинациях Крупинка/Кристалл 2, Новинка 5/Леукурум 21, Леукурум 21/Прикумская 142 и др. произошло снижение высоты растений на 2,4-8,6 см. Высокая и средняя ОКС и сравнительно невысокие значения варианты СКС по снижению высоты растений у сортов Крупинка, Новинка 5, Леукурум 21 и Прикумская 142, говорит о важности у них генов с аддитивным действием. Эти сорта могут быть рекомендованы к использованию в селекции, так как они хорошо передают признак снижения высоты растений своему потомству, что дает основание предположить возможность выделения в  $F_2$  ценных рекомбинантов.

#### **С7-12. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДЕТЕРМИНАЦИЯ АЗОТНОГО ПИТАНИЯ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.)**

***Ситников М.Н. <sup>\*1</sup>, Шумлянская Н.В. <sup>2</sup>, Гончарова Э.А. <sup>3</sup>, Чесноков Ю.В. <sup>3</sup>***

*<sup>1</sup>Кабардино-Балкарский государственный университет (Нальчик), Россия;*

*<sup>2</sup>Южный федеральный университет (Ростов-на-Дону), Россия;*

*<sup>3</sup>Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (Санкт-Петербург), Россия*

\*e-mail: genetic@mail.ru

Потребность в элементах питания зависит от наследственной природы растения и от условий внешней среды. Среди зерновых наибольшей потребностью в азоте отличаются яровая и озимая пшеницы, наименьшей – ячмень и рожь. Внесение удобрений в количествах, превышающих потребности растений, не ведет к дальнейшему увеличению урожайности и может сопровождаться ухудшением качества продукции. Мы сделали попытку оценить реакцию генотипа яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) на изменение условий почвенного питания. В наших исследованиях картирующая популяция ITMI, состоящая из 110 рекомбинантных инбредных линий, была оценена по целому ряду морфо-биологических и хозяйственно ценных признаков на разных фонах азотного питания. Для создания разных фонов почвенного питания и предотвращения вымывания удобрений в процессе вегетации предварительно подготавливались траншеи глубиной 0,4 м, шириной 1 м и длиной 20 м, дно которых выстилалось полиэтиленовой пленкой. Траншеи заполнялись землей из нижних

горизонтов почвы. Вносилась питательная смесь из расчета физиологической нормы для злаков на 1 кг сухой почвы N – 0,15 г, P – 0,1 г, K – 0,1 г действующего вещества. На одном фоне доза азота была снижена вдвое, при сохранении доз фосфора и калия. Всего анализировали 39 различных признаков на протяжении всего периода вегетации. Совмещение условий полевого и вегетационного опыта позволило максимально приблизить эксперимент к реальным условиям и, вместе с тем, обеспечить строгий контроль за вегетацией растений. Выявленные в нашем исследовании QTL можно условно разделить на зависимые и не зависимые от воздействия окружающей среды. Например, часть QTL признаков, определяющих восковой налет, фенологические фазы и др., остаются стабильными, не зависимо от условий почвенного питания. У признаков определяющих структуру урожая QTL проявляли нестабильность и меняли свою локализацию на хромосомах при разных условиях обеспечения азотом. Большинство из идентифицированных QTL меняли свою локализацию при изменении доз азотного питания, а в некоторых случаях появились дополнительные QTL, которые также вносили вклад в определение того или иного признака. Экспериментально показано, что активность блоков генов, определяющих физиолого-агронOMICESКИЕ и морфо-биологические количественные признаки зависят от вносимой дозы минерального азота.

#### **C7-13. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ПО СИСТЕМАМ ГЕНОВ *VRN* И *PPD* – ОСНОВА ПОПУЛЯЦИОННОГО РАЗНООБРАЗИЯ БИОТИПОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ *TRITICUM AESTIVUM* L.**

**Кокшарова Т.А.**

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (Москва), Россия

e-mail: ta\_koksharova@rambler.ru

*Triticum aestivum* L. – вид с широким адаптивным полиморфизмом, возникшим в результате длительного мутационного процесса и естественного отбора. В настоящее время известны следующие биотипы мягкой пшеницы, различия между которыми обусловлены системой генов *Vrn* и *Ppd*: истинно яровые (*Vrn – Ppd –*), истинно озимые (*vrn vrn ppd ppd*), двуручки (*Vrn – ppd ppd*), незимующие озимые (*vrn vrn Ppd –*). Рецессивное состояние по всем генам *vrn* и *ppd* приводит к потребности в яровизации и длинном световом дне, соответственно. Доминантное состояние снижает такую потребность. В частности, двуручка ведет себя как яровая при весеннем посеве, и как озимая при осеннем. Комплексное изучение систем генов *Vrn* и *Ppd* позволило разработать программы получения скороспелых аналогов существующих сортов, а также линий озимой пшеницы от скрещивания только яровых сортов. Кроме того, стала понятной природа незимующих озимых сортов, у которых ген *Ppd* обеспечивает нейтральность к длине дня. Это особенно важно для селекции озимой пшеницы в районах с мягкими зимами. Заметным достижением генетиков и физиологов стало открытие механизмов работы генов *vrn1*, *vrn2*, *vrn3*. Так, в результате яровизации продукт гена *vrn1*, кодирующего MADS-бокс транскрипционный фактор, подавляет работу гена *vrn2*, который, в свою очередь, кодирует фактор ZCCT (репрессор цветения). Ген *vrn3* отвечает за синтез флоригена, предсказанного М.Х.Чайлахяном. Изучение особенностей системы генов *Vrn* и *Ppd* (а также системы *Vrd*, контролирующей чувствительность к длительности яровизации) позволяет определить селекционную ценность различных сортов мягкой пшеницы для конкретных географических и климатических зон. Современные данные о генетическом контроле и молекулярных механизмах становления признака «озимости-яровости» дают понимание

роли комбинативной и мутационной изменчивости по системе генов *Vrn* и *Ppd* у мягкой пшеницы.

#### **\*C7-14. АНАЛИЗ АЛЛЕЛЬНОГО РАЗНООБРАЗИЯ ГЕНА *VRN-1* В СОСТАВЕ ПОЛИПЛОИДНЫХ ВИДОВ ПШЕНИЦ И ИХ ДИПЛОИДНЫХ ПРЕДКОВ**

**Щербань А.Б.\*; Стрыгина К.В., Салина Е.А.**

ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН

(Новосибирск), Россия

\*e-mail: atos@bionet.nsc.ru

Разработаны ПЦР-маркеры для оценки аллельного состояния локусов *VRN-A1*, *VRN-B1* и *VRN-D1*, контролирующих чувствительность к яровизации и срок колошения у мягкой пшеницы *T. aestivum*. С использованием отобранных маркеров проведен ПЦР-скрининг набора образцов пшениц различного уровня плоидности: а) диплоидных видов-предшественников А и В-геномов мягкой пшеницы; б) тетраплоидных видов (АВ-геном) *T. dicoccoides* и *T. durum*; в) гексаплоидных видов (АВD) *T. spelta* и *T. aestivum*. В случае гексаплоидного вида *T. aestivum* проанализирована обширная коллекция яровых сортов, представляющих различные географические зоны Западной Европы, Украины, России и Казахстана. Проведена статистическая оценка частот распространения различных аллелей *VRN-1* и их комбинаций в составе ди- и полиплоидных видов пшениц. На основе молекулярного генотипирования указанных образцов построена схема дивергенции гомеологических локусов *VRN-1* в ходе последовательных этапов филогенеза от диплоидных предков пшениц до современных сортов гексаплоидной пшеницы.

#### **C7-15. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ СТРОЕНИЯ КОРНЕВОЙ СИСТЕМЫ И ЕЕ СВЯЗЬ СО СКОРОСТЬЮ РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЯ У МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM* L.)**

**Пшеничникова Т.А.\*<sup>1</sup>, Симонов А.В.<sup>1</sup>, Морозова Е.В.<sup>1</sup>, Щукина Л.В.<sup>1</sup>, Смирнова О.Г.<sup>1</sup>, Бёрнер А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН

(Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research

(Гатерслебен), Германия

\*e-mail: wheatpsh@bionet.nsc.ru

Хорошо развитая корневая система растения играет важнейшую роль в адаптации растения к дефициту влаги в почве, а также противостоит полеганию. Архитектура корневой системы определяется, в основном, ее длиной и объемом (весом). Несмотря на широкое развитие молекулярных технологий, генетический контроль этого признака до сих пор слабо изучен у мягкой пшеницы и других злаков - основных сельскохозяйственных культур мира. Целью данного исследования было установить хромосомную локализацию и картировать locus, определяющий развитие корневой системы у мягкой пшеницы, а также установить его проявление в различных условиях яровизации и водообеспечения. Для этого длина корней и их вес были изучены в серии межсортовых замещенных линий Чайниз Спринг/Синтетик 6х (ЧС/Син 6х), где реципиентом был сорт яровой мягкой пшеницы, а донором отдельных пар хромосом был озимый синтетический аллогексаплоид ААВВDD (*Triticum dicoccoides* × *Aegilops tauschii*). Эти параметры изучали в условиях нормального и ограниченного водоснабжения при различном сроке яровизации. Было установлено, что замещение хромосомы 1А приводит к значительному уменьшению размера корневой системы растения. Замещение хромосомы 5D,

напротив, приводит к существенному ее увеличению по сравнению с донором и реципиентом. На следующем этапе в тех же условиях был изучен набор генотипированных интрогрессированных рекомбинантных линий ЧС/Син 5D. Было установлено, что наибольший вес и длину корней, а также вегетационный период, сопоставимые с замещенной линией по хромосоме 5D, имеют интрогрессированные линии 5D-5, 5D-6 и 5D-10. Эти линии имеют общий участок интрогрессии в длинном плече, маркированный локусом *Xgwm292* и геном *Vrn-D3*. Эти линии были дополнительно изучены при 45- и 60-дневной яровизации. Было обнаружено, что при обоих сроках яровизации эти три линии имели наиболее развитую корневую систему. Засуха угнетающе действовала на развитие корневой системы всех линий, но наибольшую длину и вес корней в этих условиях имели также замещенная линия по хромосоме 5D и рекомбинантные линии 5D-5, 5D-6 и 5D-10. Полученные данные могут говорить о наличии в этом районе хромосомы 5D локуса, ответственного за проявление изучаемого признака.

### **С7-16. МАРКИРОВАНИЕ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К БУРОЙ РЖАВЧИНЕ В СОРТАХ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ, РАЙОНИРОВАННЫХ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ**

***Будоичик А.А.*\*, *Долматович Т.В.***

*ГНУ Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси (Минск), Беларусь*

\*e-mail: A.Buloichik@igc.bas-net.by

Проблема устойчивости мягкой пшеницы к возбудителю бурой ржавчины в Беларуси приобретает большое значение. Это связано с изменением климата и недостаточной изученностью разрешенных к выращиванию сортов пшеницы на наличие генов устойчивости. Возможности фитопатологического теста ограничены вирулентными особенностями клонов, встречающихся в популяциях патогена. Поэтому, наряду с этим методом, для тестирования *Lr*-генов в селекционном материале применяют различные типы молекулярных маркеров. Наибольший интерес представляют маркеры, позволяющие детектировать непосредственно сами гены. Однако из более 80 известных генов устойчивости к бурой ржавчине к настоящему времени клонированы только *Lr1*, *Lr10*, *Lr21* и *Lr34*. Из литературных источников были отобраны маркеры, сцепленные с *Lr*-генами, проверена возможность их использования для маркер-сопутствующей селекции и проведен скрининг *Lr*-генов во всех сортах мягкой яровой пшеницы, внесенных в Государственный реестр Республики Беларусь 2013 года. С помощью молекулярных маркеров к генам устойчивости протестировано 22 яровых и 51 озимый сорт мягкой пшеницы. В результате изучения яровых сортов, фрагмент амплификации, соответствующий гену *Lr1* выявлен у сортов Fasan (Германия), Kokska и Verbena (Польша), а гену *Lr10* – у сорта Василиса (Беларусь). Маркерный локус, сцепленный с геном *Lr20*, выявлен у сортов польской селекции (Banti, Bombona, Korynta), немецкой селекции (Quattro, Fasan, Triso), а также белорусской селекции (Василиса, Виза, Дарья, Ласка, Любава, Рассвет, Сабина). В районированных сортах мягкой яровой пшеницы не выявлены локусы, сцепленные с генами устойчивости *Lr9*, *Lr19*, *Lr21*, *Lr22a*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr37*, *Lr42*, *Lr46* и *Lr47*.

Скрининг озимых образцов пшеницы показал наличие гена *Lr1* у сортов Сакрэт, Саната, Уздым, Элегия, Ядвися (Беларусь), Akteur (Германия), Finezja, Muza, Turnia (Польша). Ген *Lr10* выявлен у сортов Finezja (Польша), Darota, Olivia (Франция), Vogemia (Чехия), Arctis, Skagen (Германия). Наличие гена *Lr34* показано в сортах Фантазия (Беларусь), Дар зернограда, Дон 93 (Россия), Akteur (Германия). Локус, сцепленный с геном *Lr26*,

обнаружен у сортов Фантазия, Капэла (Беларусь), Markiza (Польша), а с геном *Lr37* – у Skagen и Sailor (Германия). В исследованных сортах мягкой озимой пшеницы не выявлены локусы, сцепленные с генами устойчивости *Lr9*, *Lr19*, *Lr20*, *Lr21*, *Lr22a*, *Lr24*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr35*, *Lr47*.

### **С7-17. ИНТРОГРЕССИВНЫЕ ЛИНИИ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С ГЕНЕТИЧЕСКИМ МАТЕРИАЛОМ *T. TIMOPHEEVII*: ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ПО ГЕНАМ УСТОЙЧИВОСТИ К ГРИБНЫМ БОЛЕЗНЯМ И ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ**

***Леонова И.Н.*\*, *Будашкина Е.Б.*, *Салина Е.А.***

*ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия*

\*e-mail: leonova@bionet.nsc.ru

Расширение генетического разнообразия современных сортов мягкой пшеницы по генам устойчивости к болезням за счет интрогрессии генетического материала диких и культурных сороридей является перспективным подходом современной генетики и селекции. Поиск новых генов и их дальнейшее использование в селекции предполагает проведение комплексных исследований по изучению молекулярно-генетического разнообразия перспективных источников, выявления чужеродного хроматина и оценки его влияния на хозяйственно-важные признаки. Коллекция интрогрессивных линий мягкой пшеницы с генетическим материалом *T. timopheevii* характеризуются эффективной устойчивостью к различным грибным патогенам. Анализ аллельных вариаций по микросателлитным локусам, специфичным для генома мягкой пшеницы и *T. timopheevii*, показал, что наибольшим разнообразием отличаются локусы пятой гомеологической группы хромосом. Однако индекс генетического разнообразия *He* интрогрессивных линий был ниже как при оценке индивидуальных хромосом, так и суммарно по трем геномам в сравнении с исходными родительскими образцами. Выявление хромосомной локализации чужеродных фрагментов показало высокую частоту замещений и транслокаций во второй и пятой гомеологических группах хромосом. Анализ восприимчивости линий к тест-изолятам *Puccinia triticina*, содержащих комбинации патотипов с различными генами вирулентности, позволяет предположить наличие в геноме интрогрессивных линий новых более эффективных локусов устойчивости к бурой ржавчине. Картирование генов устойчивости к бурой ржавчине выявило два независимых гена *LrTt1* и *LrTt2* на хромосомах 2A и 5B, в различной степени контролирующих признак. Оценка интрогрессивных линий по комплексу хозяйственно-важных признаков не выявила негативного влияния чужеродного хроматина на признаки продуктивности колоса, но показала отрицательный эффект хромосом 2B и 5B на время колошения. Интрогрессивная линия сорта Саратовская 29 была использована в качестве донора гена *LrTt2* в схемах маркер-ориентированной селекции. Показано, что перенос фрагмента, содержащего *LrTt2*, в геном восприимчивого сорта мягкой пшеницы повысил его устойчивость к популяции бурой ржавчины западно-сибирского региона. Интрогрессивные линии *T. aestivum/T. timopheevii* могут представлять практический интерес для их использования в селекции.

### **С7-18. ИЗУЧЕНИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ АДАПТИВНЫХ И ХОЗЯЙСТВЕННО ЦЕННЫХ ПРИЗНАКОВ ПРИ НАПРАВЛЕННОМ ЗАМЕЩЕНИИ ХРОМОСОМ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ**

***Ефремова Т.Т.*\*, *Арбузова В.С.*, *Трубачева Н.В.*,**

***Чуманова Е.В.*, *Перишина Л.А.***



ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН  
(Новосибирск), Россия  
\*e-mail: efremova@bionet.nsc.ru

Направленное преобразование генома мягкой пшеницы при чужеродном или внутривидовом замещении отдельных хромосом или их фрагментов является одним из основных направлений хромосомной инженерии. На основе разработки теоретических и практических методов ускоренного и точного переноса отдельных хромосом или их участков, несущих желаемые гены от сородичей в геном мягкой пшеницы нами получены замещенные, дополненные, транслоцированные и почти изогенные линии мягкой пшеницы. Данная коллекция использована для изучения эффектов отдельных хромосом на проявления признаков, определяющих адаптацию, устойчивость к биотическим и абиотическим стрессам и качество зерна. Кроме того, в процессе создания пшенично-чужеродных замещенных линий изучены основные закономерности и особенности замещения между хромосомами, конкурентная способность и частота передачи унивалентных чужеродных хромосом. На основе линий с межсортовым замещением хромосомы 5B и почти изогенных линий с доминантными аллелями гена *Vrn-B1* доказано наличие двух аллелей *Vrn-B1a* и *Vrn-B1c*, определяющих различие по времени колошения. С помощью аллель-специфичных праймеров, разработанных для локусов *Vrn-1*, изучено аллельное разнообразие генов *Vrn* у сортов яровой мягкой пшеницы Западной Сибири для выявления комбинаций аллелей генов наиболее адаптированных к конкретным условиям окружающей среды. Изучено влияние 5R(5A) замещения хромосом на зимостойкость у пшенично-ржаных замещенных линий, полученных на основе как яровых сортов-реципиентов пшеницы и ржи Онохойская, не обладающих зимостойкостью, так и озимых сортов-реципиентов Безостая 1, Ульяновка, Филатовка и озимой ржи Вьетнамская местная в условиях г. Новосибирска. С помощью замещенных линий сорта-реципиента Саратовская 29, обладающего высокими хлебопекарными качествами, но низким содержанием белка, обнаружены существенные эффекты хромосом 5D и 5A пшеницы на отдельные технологические показатели зерна (твердозерность) и содержание белка. На основе ранее полученных пшенично-ячменных дополненных линий с телоцентрической хромосомой 7HL от дикорастущего ячменя *H. marinum* subsp. *gussoneanum* (Parl.) (=H. *geniculatum* All.) проведено целенаправленное замещение этой хромосомы на хромосомы 7 гомеологической группы мягкой пшеницы. Изучена частота передачи через гаметы чужеродной телоцентрической хромосомы 7HL ячменя и унивалентных хромосом пшеницы при получении пшенично-ячменных 7HL(7A), 7HL(7B) и 7HL(7D) замещенных линий. Установлено, что отцовские гаметы с хромосомой 7H ячменя обладают пониженной конкурентноспособностью и чужеродная хромосома лучше передается через яйцеклетки.

#### С7-19. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ В СЕЛЕКЦИИ ПШЕНИЦЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К БОЛЕЗНЯМ В КРАСНОДАРСКОМ НИИСХ ИМ. П.П. ЛУКЬЯНЕНКО

*Даваян Э.Р. \**, *Беспалова Л.А.*, *Даваян Р.О.*, *Зубанова Ю.С.*  
ГНУ Краснодарский НИИ сельского хозяйства  
им. П.П. Лукьяненко Россельхозакадемии (Краснодар), Россия  
\*e-mail davayan@rambler.ru

Применение эффективных генов устойчивости к патогенам в селекции пшеницы является экономически выгодным и экологически безопасным методом борьбы с болезнями. В Краснодарском НИИСХ им. Лукьяненко работы с молекулярными

маркерами ведутся по двум основным направлениям: первое – идентификация генов устойчивости в интрогрессивных линиях с генетическим материалом, переданным от дикорастущих сородичей, второе – маркер-зависимая селекция (MAS-селекция) направленная на создание сортов пшеницы, устойчивых к патогенам. В основе последнего направления лежит скрещивание с растением-донором и отбор из потомства генотипов, содержащих нужные признаки. Молекулярные маркеры успешно используют как инструмент для отбора растений с конкретным геном в расщепляющейся популяции. В рамках данной работы был проведен анализ сортов, линий и растений мягкой пшеницы на присутствие маркеров сцепленных с генами *Lr9*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr29*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr37*, *Lr39*, *Lr50*, *Yr10*. Растения с идентифицируемыми генами повторно беккроссировали и включили в скрещивания по объединению нескольких генов в одном генотипе. Селекционные линии с эффективным геном *Lr37* изучаются в конкурсном сортоиспытании (КСИ). Ведется работа по пирамидированию генов устойчивости к бурой ржавчине. Отобраны линии с сочетанием генов *Lr37+Lr26*, *Lr37+Lr34*, *Lr37+Lr26+Lr34*, *Lr19+Lr26+Lr34*, которые изучаются в КСИ и контрольном питомнике. Анализ сортов КНИИСХ, показал присутствие в геноме некоторых из них генов *Lr10*, *Lr34*, *Lr26*, *Lr37*, *Sr36*. С помощью молекулярных маркеров *Xgwm493* и *Xgwm533* сцепленных с локусом количественных признаков *QFhs.ndsu-3BS (Fhb1)*, был проведен скрининг 382 растений  $F_2$  на устойчивость к фузариозу колоса, выявлены образцы с содержанием данных локусов. Полученные результаты были подтверждены фитопатологической оценкой материала.

#### \*С7-20. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНТРОГРЕССИВНЫХ ФОРМ В СЕЛЕКЦИИ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

*Белан И.А. \**<sup>1</sup>, *Россева Л.П. <sup>1</sup>*, *Лайкова Л.И. <sup>2</sup>*, *Россева В.М. <sup>1</sup>*, *Байдаева Е.Д. <sup>3</sup>*, *Трубачева Н.В. <sup>3</sup>*, *Першина Л.А. <sup>2</sup>*

<sup>1</sup>ГНУ Сибирский НИИ сельского хозяйства Россельхозакадемии (Омск), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>3</sup>ФГБУН Институт общей генетики им. Н.В. Вавилова РАН (Москва), Россия

\*e-mail: belan\_skg@mail.ru

Эффективность селекционной работы во многом определяется масштабами селекционной проработки материала и его генетическим разнообразием. Источниками новых генов, определяющих устойчивость пшеницы к стрессовым факторам, являются ее дикорастущие сородичи. В Институте цитологии и генетики была получена гибридная популяция от скрещивания сорта пшеницы Ранг и иммунной линией сорта Саратовская 29, в которую был интрогрессирован генетический материал от синтетической пшеницы (*T. timopheevii* Zhuk. x *Ae. tauschii* Coss). Отбор из этой популяции привел к получению ряда перспективных линий, одна из которых стала сортом яровой мягкой пшеницы, названным Памяти Майстренко. Согласно С-окрашиванию хромосом, у этого сорта замещены хромосомы 2В и 6В на гомеологичные хромосомы G-генома *T. timopheevii* и хромосомы 1D на ортологичную хромосому *Ae. tauschii*. Сорт Памяти Майстренко характеризует устойчивость к бурой и стеблевой ржавчине, мучнистой росе, пыльной головне и к засухе, а также высокие показатели качества зерна и хлебопекарных свойств. Из этого сорта выделены линии, которые вовлечены в скрещивания для дальнейшего создания нового селекционного материала. Проведены исследования по выявлению чужеродного генетического материала в сортах яровой мягкой пшеницы, ранее созданных в лаборатории яровой мягкой пшеницы ГНУ СибНИИСХ. В этом отношении большой интерес

представляют сорта сильной пшеницы Омская 37 и Омская 38, у которых выявлено наличие двух транслокаций – пшенично-ржаной 1RS.1BL (*Lr26/Sr31/Yr9/Pm8*) и пшенично-пырейной 7DL-7A (*Lr19/Sr25*). Благодаря сочетанию чужеродных генов, определяющих устойчивость к грибным патогенам, эти сорта целенаправленно используются в дальнейшей селекционной работе. Так, одна из линий, выделенная из сорта Омская 37, после отборов на инфекционном фоне при молекулярно-цитологическом контроле, была передана на Государственное сортоиспытание в качестве сорта Омская 41. Кроме того, в селекционную работу включено разнообразие линий яровой мягкой пшеницы, несущих генетический материал *T. dicocum*, *T. dicoccoides*, *T. durum*. Таким образом, в лаборатории создано многообразие перспективных линий и форм с интрогрессией чужеродного генетического материала, которые характеризуются высокой степенью адаптивности к неблагоприятным биотическим и абиотическим факторам.

#### **С7-21. ИЗУЧЕНИЕ ПШЕНИЧНО-ЭГИЛОПСНЫХ ИНТРОГРЕССИВНЫХ ЛИНИЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ И БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ**

**Рубан А.С.<sup>1</sup>, Шишкина А.А.<sup>\*2</sup>, Сибикеев С.Н.<sup>3</sup>, Драгович А.Ю.<sup>2</sup>, Бадаева Е.Д.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ФГОУ ВПО РГАУ–МСХА им. К.А. Тимирязева (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия;

<sup>3</sup>ГНУ НИИСХ Юго–Востока (Саратов), Россия

\*e-mail: ceroplastes@yandex.ru

Являясь близкородственными роду *Triticum* L., представители рода *Aegilops* L., могут быть использованы в селекционных программах по улучшению пшеницы и в филогенетических исследованиях. Виды рода *Aegilops* L. являются источниками генов устойчивости, важными для возделываемых сортов пшеницы. Линии, несущие эти гены, могут служить ценным исходным материалом. В этой связи идентификация хромосом эгилопса и определение их гомеологии с хромосомами пшеницы является важной и необходимой задачей. Вместе с тем, в результате эволюционной дивергенции, связанной с амплификацией, элиминацией, перераспределением последовательностей, хромосомными перестройками и полиплоидией, идентификация геномов и установление гомеологии хромосом эгилопса с хромосомами пшеницы затруднена и даже невозможна, что осложняет их направленное использование в селекционной практике. В настоящей работе были изучены 18 пшенично–эгилопсных интрогрессивных линий. Целью исследования являлась идентификация хромосом эгилопса и классификация их в соответствии с единой генетической классификацией хромосом злаков. С использованием метода С–бэндинга, флюоресцентной *in situ* гибридизации (FISH), электрофореза запасных белков в полиакриламидном геле (ПААГ) установлено, что исследованные линии несли от 1 до 3 дополнительных или замещенных хромосом эгилопса; в некоторых линиях интрогрессированный генетический материал был представлен акроцентриками и телоцентриками хромосом *Aegilops*. Цитологически установлено, что интрогрессированные хромосомы эгилопса относятся к 3, 5 и 6 гомеологическим группам. Участие хромосом 6 группы подтверждено электрофорезом запасных белков. У нескольких образцов обнаружена транслокация длинного плеча хромосомы 4В и короткого плеча неидентифицируемой хромосомы. В кариотипах некоторых линий интрогрессированного чужеродного материала выявлено не было. Всего же из 14 хромосом генома эгилопса у изученных линий выявлены только шесть типов хромосом. Известно, что данные линии создавали с целью

передачи пшенице генов устойчивости к ржавчине от *Aegilops columnaris* Zhuk. Вероятно, что именно эти шесть типов хромосом и несут гены, контролирующие хозяйственно-ценные признаки.

#### **\*С7-22. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЧУЖЕРОДНО-ЗАМЕЩЕННЫХ ЛИНИЙ ПШЕНИЦЫ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ И КАРТИРОВАНИЯ ГЕНОВ ЗАЩИТНОГО ОТВЕТА**

**Хлесткина Е.К.<sup>\*</sup>, Шоева О.Ю., Леонова И.Н., Добровольская О.Б., Петраш Н.В., Салина Е.А.**  
ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН  
(Новосибирск), Россия

\*e-mail: khlest@bionet.nsc.ru

В настоящее время большое внимание уделяется использованию генетического потенциала дикорастущих и культурных сородичей для улучшения устойчивости основных злаковых культур к биотическому и абиотическому стрессу. Основным хлебным злаком является пшеница мягкая (*Triticum aestivum* L.,  $2n = 6x = 42$ , геном ВВААDD), а потенциальными донорами полезных генов для данной культуры служат, в числе прочих, такие виды злаков как *T. timopheevii* ( $2n = 4x = 28$ , GGAA), *Aegilops speltoides* ( $2n = 2x = 14$ , SS) и *Secale cereale* ( $2n = 2x = 14$ , RR). Данные виды являются как донорами специфической устойчивости к определенным патогенам или факторам абиотического стресса, так и потенциальными источниками широкой неспецифической устойчивости к различным стрессорным факторам, которая обеспечивается, в том числе, генами защитного ответа. В настоящей работе при использовании чужеродно-замещенных, а также нуллитетрасомных и делеционных линий пшеницы осуществлено выделение и картирование генов защитного ответа *T. aestivum TaChi1*, *Ae. speltoides AsChi1*, *T. timopheevii TtChi1* и *S. cereale ScChi1*, кодирующих фермент биосинтеза флавоноидов халконфлаванонизомеразу. Выделенные гены являются ортологичными и локализируются в длинном плече хромосомы 5 злаков Triticeae. С помощью ОТ-ПЦР в реальном времени проведена оценка транскрипции *Chi* в coleoptиле и корнях чужеродно-замещенных линий пшеницы, несущих гены *Ae. speltoides* и *T. timopheevii* вместо гена *TaChi-B1 T. aestivum*. Полученные результаты указывают на более низкую эффективность экспрессии чужеродных генов по сравнению с *TaChi-B1* пшеницы.

Работа выполнена при частичной поддержке РФФИ (12-04-33027).

#### **С7-23. МАРКЕР-КОНТРОЛИРУЕМОЕ ПОЛУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИЗОГЕННЫХ ЛИНИЙ ПШЕНИЦЫ, НЕСУЩИХ РАЗЛИЧНЫЕ КОМБИНАЦИИ АЛЛЕЛЕЙ PP (PURPLE PERICARP)**

**Гордеева Е.И.<sup>\*</sup>, Шоева О.Ю., Хлесткина Е.К.**  
ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН  
(Новосибирск), Россия

\*e-mail: elgordeeva@bionet.nsc.ru

В последние годы возрастает интерес к пшенице с фиолетовым зерном, как к источнику полезных для здоровья человека антиоксидантов. До настоящей работы у мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.;  $2n = 6x = 42$ , геном ВВААDD) были выявлены 2 доминантных комплементарных гена, контролирующих фиолетовую окраску перикарпа зерна (*Pp-D1* в хромосоме 7D и *Pp3* в хромосоме 2A), а в ИЦиГ СО РАН были созданы почти изогенные линии с рецессивными или, наоборот, доминантными аллелями сразу в двух комплементарных локусах. Однако для выяснения функции каждого из этих двух пока еще мало

изученных генов, а также для обеспечения более точного контроля в физиолого-генетических исследованиях существовала потребность в изогенных линиях, содержащих комбинации аллелей *Pp-D1pp3* и *pp-D1pp3*. Для их получения было проведено скрещивание сорта Саратовская 29 (генотипа *pp-D1pp3*) с почти изогенной линией, несущей в обоих локусах *Pp* доминантные аллели. Отбор нужных линий в  $F_2$  осуществлялся по генотипу (с помощью микросателлитных ДНК-маркеров, тесно сцепленных с генами *Pp*) и по фенотипу (с помощью фенотипического маркера «окраска coleoptile» (*Rc-D1*), тесно сцепленного с *Pp-D1*). Полученные линии, использовались для сравнительного анализа транскрипции структурных генов биосинтеза антоцианов методом «ПЦР в реальном времени», с целью выяснить конкретные функции отдельных генов *Pp* в регуляции биосинтеза антоцианов. Было установлено, что на отдельных этапах биосинтеза достаточно наличия доминантного аллеля одного из генов *Pp* (добавление доминантного аллеля другого гена лишь усиливает экспрессию структурных генов биосинтеза). В то же время на этапе синтеза дигидрофлавонолов из нарингенина наличие обоих генов, *Pp-1* и *Pp3*, является критическим.

Изогенные линии с различными комбинациями аллелей *Pp* использовались для анализа жизнеспособности семян пшеницы после искусственного старения. Линии с антоциановым пигментом в перикарпе имели достоверно более высокий индекс всхожести. Такое действие антоцианов можно объяснить их антиоксидантными свойствами и участием в нейтрализации свободных радикалов, образующихся в процессе старения клеток.

Авторы выражают благодарность к.б.н. Арбузовой В.С. (ИЦиГ СО РАН) за предоставление исходных линий пшеницы, используемых в скрещиваниях, и ст.лаб.-иссл. Генераловой Г.В. (ИЦиГ СО РАН) за помощь при постановке экспериментов. Работа поддержана грантами Президента РФ МД-2615.2013.4 и РФФИ 14-04-31637.

**\*С7-24. СИНТЕТИЧЕСКАЯ ГЕКСАПЛОИДНАЯ ПШЕНИЦА КАК ИСХОДНЫЙ МАТЕРИАЛ ДЛЯ СЕЛЕКЦИОННОГО УЛУЧШЕНИЯ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ**  
**Хакимова А.Г. \***, **Пюккенен В.П.**, **Митрофанова О.П.**

*Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова РАСХН (Санкт-Петербург), Россия*

\*e-mail: a.hakimova@vir.nw.ru

Синтетическая гексаплоидная пшеница – искусственный гибрид, полученный между тетраплоидной пшеницей (геном AABB) и *Aegilops tauschii* Coss. (DD) с последующим удвоением его хромосом при обработке колхицином или спонтанно. Она обладает большим потенциалом для увеличения генетического разнообразия мягкой пшеницы как за счет диплоидного компонента эгилопс, так и тетраплоидной пшеницы. Во многих странах мира образцы синтетической пшеницы широко используют в селекционных программах для улучшения элитных сортов собственной селекции. В настоящее время в коллекцию ВИР привлечено 194 образца, созданных в СИММУТ (Мексика). С 2009 г. одновременно с изучением образцов синтетической пшеницы начата работа по созданию гибридного материала мягкой пшеницы с полезными свойствами от синтетической пшеницы. В качестве родительских форм использованы современные селекционные сорта отечественной селекции Волжская СЗ (к-64632), Жемчужина Поволжья (к-64909), Зерноградка 9 (к-62738), Агра (к-64492), Авеста (к-64491), Доминанта (к-64620), Донна (к-64910) и синтетики (всего 10 образцов), выделившиеся при лабораторном и полевом изучении в Северо-Кавказском, Центральном и Северо-Западном регионах по различным селекционно-ценным признакам, а именно высокой массе 1000 зерен, устойчивости к бурой ржавчине, мучнистой росе, желтой и темно-бурой пят-

нистостям, высокому содержанию белка и клейковины, составу субъединиц высокомолекулярного глютеина генома D и другим признакам. Гибриды  $F_1$  и  $F_2$  оценивали в яровом и озимом посевах на опытном поле ВИР, г. Пушкин, по способности к перезимовке, высоте растений, длине колосового междоузлия и элементам продуктивности. Все гибриды  $F_1$  были жизнеспособными и высоко фертильными, за исключением гибридов от скрещивания сорта Волжская СЗ с семью разными синтетиками. У них наблюдали проявление гибридного некроза на ранних стадиях развития растений и гибель растений. Жизнеспособными были только гибриды  $F_1$  этого сорта с образцом ТК SN1081 / *Ae tauschii* (690). На примере изучения гибридов  $F_2$  от скрещивания четырех образцов синтетической пшеницы с сортом Зерноградка 9 показано, что размах варьирования значений каждого из изученных признаков у гибридов во всех комбинациях скрещивания перекрывал пределы его варьирования у сорта Зерноградка 9. От  $F_2$  растений заложены 64 гибридные линии  $F_3$  озимого типа развития и 83 ярового типа развития с целью дальнейшего изучения и выделения перспективного исходного материала для селекции.

**С7-25. НЕТРАДИЦИОННАЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ КУЛЬТУРА – МНОГОУКОСНАЯ ЗЕРНОКОРМОВАЯ КУЛЬТУРА TRITICUM AGROPYROTRITICUM SSP. SUBMITTANS CICIN (ПППГ, 2N = 56)**

**Иванова Л.П. \***<sup>1</sup>, **Белов В.И.**<sup>1</sup>, **Завгородний С.В.**<sup>1</sup>, **Упелниек В.П.**<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия

\*e-mail: gbsran@yandex.ru

Академик Н.В. Цидин в 30-е годы впервые получил фертильные гибриды пшеницы с разными видами пырея, что послужило мощным стимулом для работ по отдаленной гибридизации, как в нашей стране, так и за рубежом. В настоящий момент в Главном ботаническом саду в результате сложных многоступенчатых отдаленных скрещиваний и системы отборов получены перспективные для фундаментальных исследований и производственных целей формы. Среди большого ботанического разнообразия по структуре, окраске колоса и зерна наиболее перспективными в хозяйственном отношении стали разновидности var. *luteolum* и var. *aristatum*. Современные селекционные образцы по урожаю высокобелковой зеленой массы за три укоса или уборки на зерно значительно превосходят все ранее полученные отрастающие гибриды. В среднем за вегетационный период урожай зеленой массы составляет 500-800 ц/га, зерна более 30 ц/га с массой 1000 семян от 30 до 40 г и содержанием белка до 19%. Полученные линии имеют высокую озерненность колоса (80-95 зерновок). Выделены генотипы с высокой кустистостью до 20 побегов и побегообразующей способностью отрастания после 2-3 кратного скашивания. По технологическим оценкам ПППГ выделяются высоким содержанием сырой клейковины (до 50%). Существенным достижением селекционно-генетической работы, является получение линий с высокими хлебопекарными свойствами, превосходящими сорта озимой пшеницы Заря и Московская 39, что позволяет их использовать в хлебопекарном производстве, а также в качестве улучшителей муки слабых пшениц. Новое поколение ПППГ характеризуется высокой зимостойкостью и морозостойкостью, обладает выраженной толерантностью к мучнистой росе, бурой ржавчине, твердой головне. Лучшие по комплексу хозяйственно-ценных признаков ПППГ, в настоящее время испытываются в конкурсном сортоиспытании и предварительном размножении с целью передачи в Госкомиссию Российской Федерации по испытанию и охране селекционных достижений в качестве новой нетрадиционной зернокармальной пшеницы.



### C7-26. ИНТРОГРЕССИВНЫЕ ЛИНИИ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С ГЕНЕТИЧЕСКИМ МАТЕРИАЛОМ *AGROPYRON GLAUCUM*

Давоян Р.О.

ГНУ Краснодарский НИИСХ (Краснодар), Россия  
e-mail: davoyanro@mail.ru

Пырей сизый *Agropyron glaucum* является ценным источником генов устойчивости к болезням, морозостойкости, выносливости к засолению. Для передачи генетического материала от этого вида мягкой пшенице был использован 76-хромосомный нестабильный амфидиплоид объединяющий в себе геномы А и В мягкой пшеницы сорта Аврора, часть (шесть) хромосом генома D этого сорта и полный набор хромосом *Ag. glaucum* ( $2n = 42$ ). Реципиентом был выбран сорт озимой мягкой пшеницы Аврора. На первом этапе работы было отобрано 144 мейотически стабильных линий мягкой пшеницы сорта Аврора с хромосомами *Ag. glaucum*. Из них было отобрано 58 линий, замещенных по одной паре хромосом. Следующим этапом работы являлась идентификация замещенных хромосом и установление их связи с различными морфобиологическими признаками. На основании изучения мейоза МI у гибридов, полученных от скрещивания линий между собой, и тестерными чужероднозамещенными линиями было выяснено, что линии имеют как сходные, так и различные замещенные хромосомы. Хромосомы *Ag. glaucum* с большей частотой замещают 3D, 6D и 7D хромосомы пшеницы. Реже встречаются линии с замещениями по 2D и 4D хромосомам, не было найдено линий с замещением 1D хромосомы пшеницы. Наряду с замещенными хромосомами, были также выделены линии с транслокациями. Для идентификации транслокаций и замещенных хромосом был проведен микросателлитный анализ с использованием специфичных к хромосомам D-генама маркеров. По всем хромосомам генома D за исключением 4D, выявлены замещенные линии. В четырех линиях – D17, D37, D39 и D41 идентифицированы транслокация 2DL.2AgS и замещение хромосомы 5D мягкой пшеницы на 5Ag. Замещение 5D-5Ag подтверждено методом дифференциальной окраски хромосом (С-метод). Этим же методом выявлено замещение 7D-7Ag. Следует отметить, что замещение 5D-5Ag идентифицировано впервые. Данное замещение придало восприимчивому сорту Аврора высокую устойчивость к листовой и желтой ржавчине и среднюю устойчивость к мучнистой росе. В целом большинство линий проявляют устойчивость к одной, двум и более болезням пшеницы. Для идентификации генов устойчивости к листовой ржавчине у полученных линий использовали ПЦР-анализ. Анализ 31 устойчивой линии не выявил присутствия маркеров, сцепленных с генами устойчивости к листовой ржавчине *Lr19*, *Lr24* и *Lr29*. Ввиду отсутствия информации о последовательностях праймеров к маркеру, сцепленному с геном *Lr38*, работы с ним не проводились. Интрогрессия генетического материала *Ag. glaucum* изменила формулу глиадина у исходного сорта, а также положительно повлияла на содержание белка и клейковины. Отобраны линии с высокими хлебопекарными показателями. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 13-04-96545 p\_юг\_a.

### C7-27. ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОЛОГИЧЕСКОЙ СТАБИЛЬНОСТИ ИНТРОГРЕССИВНЫХ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Орловская О.А. \*, Хотылева Л.В.

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (Минск), Республика Беларусь

\*e-mail: O.Orlovskaya@igc.bas-net.by

Растущий общемировой спрос на зерновые культуры требует получения элитных сортов пшеницы, адаптированных к усло-

виям внешней среды и высоким качеством зерна. Значительного усовершенствования *T. aestivum* можно достичь за счет привлечения новых источников зародышевой плазмы из дикорастущих видов. С целью расширения и улучшения генофонда пшеницы нами созданы интрогрессивные линии мягкой пшеницы, содержащие генетический материал различных видов рода *Triticum* L. Главным фактором, ограничивающим практическое применение отдаленных гибридов, является их нестабильность, ведущая к быстрой потере чужеродного генетического материала. В связи с этим мы изучили особенности поведения хромосом в микроспорогенезе 14 гибридных линий от скрещивания *T. aestivum* с *T. durum*, *T. dicoccum*, *T. dicoccoides*. Линии получены на основе разных сортов мягкой пшеницы и содержат как множественные, так и единичные замещения и транслокации в различных хромосомах. Исследовали такие стадии мейоза, как метафаза I, анафаза I, метафаза II, анафаза II и тетрады. Анализ метафазы I выявил высокий уровень бивалентного спаривания хромосом у всех гибридных линий. Количество материнских клеточек пыльцы (МКП) со 100% бивалентной конъюгацией варьировало от 53,3% до 93,3%. У всего изученного материала наблюдалось явное преобладание закрытых бивалентов над открытыми, что говорит о высокой интенсивности процесса синапсиса гомологов. Основным типом нарушений на этой стадии мейоза являлось наличие унивалентных хромосом. Среди МКП с унивалентами у большинства гибридных линий пшеницы модальным классом было сочетание 20II + 2I. Максимальное число унивалентов, обнаруженное для исследованного материала, равно четырем. Количество аномальных клеточек невелико не только на стадии MI, но и на последующих стадиях мейоза, включая заключительную стадию тетрад. Мейотический индекс (количество МКП без нарушений на стадии тетрад) находился в интервале от 60,0% до 95%. Основное нарушение на данной стадии – наличие микроядер, количество которых варьировало в исследованном материале от 1 до 7, однако чаще всего образовывались тетрады с одним и двумя микроядрами. Линии, имеющие высокий показатель хромосомных ассоциаций на ранних стадиях мейоза, как правило, имели более высокое значение мейотического индекса. Т.о., выявленный высокий уровень цитологической стабильности гибридных линий пшеницы обеспечивает формирование у них полноценных гамет и тем самым способствует сохранению чужеродных интрогрессий в ряду последующих поколений.

### \*C7-28. СОЗДАНИЕ НОВЫХ ИСТОЧНИКОВ ПШЕНИЧНО-РЖАНОЙ ТРАНСЛОКАЦИИ 1BL.1RS

Дубовец Н.И. \*, Бондаревич Е.Б. <sup>1</sup>, Соловей Л.А. <sup>1</sup>, Штык Т.И. <sup>1</sup>, Силкова О.Г. <sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГНУ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (Минск), Республика Беларусь;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия

\*e-mail: N.Dubovets@igc.bas-net.by

Интрогрессия чужеродного хроматина в геном мягкой пшеницы является наиболее эффективным способом обогащения генофонда этой культуры. В работах, направленных на повышение адаптивных свойств, в качестве донора ценных признаков чаще всего используется рожь *Secale cereale* L., причем наибольший практический интерес для селекционного улучшения пшеницы представляет короткое плечо хромосомы 1R, несущее гены устойчивости к листовой ржавчине (*Lr26*), листовой ржавчине (*Sr31*), желтой ржавчине (*Yr9*) и мучнистой росе (*Pm8*). Эти гены были интродуцированы в пшеницу благодаря использованию в скрещиваниях сортов Аврора и Кавказ, несущих транслоцированную хромосому 1RS.1BL, донором

короткого плеча которой служит сорт ржи *Petkus*. Для дальнейшего селекционного улучшения пшеницы актуальным является расширение генетической изменчивости задействованного в транслокации хроматина ржи. В связи с этим мы поставили перед собой задачу создать новые источники 1RS.W-транслокаций, для чего была проведена гибридизация линий пшеницы с наличием 3R(3B)- и 1R(1A)-замещений хромосом с исходным сортом пшеницы Саратовская 29, а также созданы тетрамоносомии путем скрещивания линий между собой. Поскольку удаление из кариотипа пшеницы хромосомы 3B вызывает асинаптический эффект, а на хромосоме 1R локализован ген эквационного деления унивалентов, предполагалось, что при скрещивании замещенных линий между собой совмещение в кариотипе гибридов этих двух эффектов может привести к образованию структурных перестроек между хромосомами пшеницы и ржи по типу *centric break-fusion*. В данном сообщении представлены результаты первого этапа работ – хромосомного анализа созданных гибридных форм с использованием метода С-бэндинга. На основании полученных данных сделаны следующие выводы: 1) интрогрессия хромосомы 1R в геном мягкой пшеницы сопровождается образованием хромосомных аберраций, затрагивающих как саму хромосому ржи (образование телосом 1RS и 1RL), так и хромосомы пшеницы (образование телоцентрических хромосом, межгеномные транслокации, делеции участков плеч), а также вызывает нестабильность генома пшеницы; 2) отсутствие телоцентрических хромосом пшеницы в потомстве от скрещивания между собой пшенично-ржаных замещенных линий 3R(3B) и 1R(1A) дает основание полагать, что одной дозы хромосомы 3B достаточно для предотвращения асинаптического эффекта, наблюдаемого при удалении из кариотипа пшеницы пары 3B-хромосом.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Интеграционного проекта СО РАН №2 и гранта БРФФИ Б12СО-018.

#### **С7-29. ИДЕНТИФИКАЦИЯ ХРОМОСОМНОГО СОСТАВА ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С ЧУЖЕРОДНЫМИ ХРОМОСОМАМИ ОТ РЖИ**

**Чуманова Е.В.**\*, **Ефремова Т.Т.**, **Арбузова В.С.**,  
**Трубачеева Н.В.**, **Першина Л.А.**

ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН  
(Новосибирск), Россия

\*e-mail: chumanova@bionet.nsc.ru

Рожь посевная *Secale cereale* L. является источником генов, повышающих устойчивость к болезням, поэтому широко используется в скрещиваниях с мягкой пшеницей для получения линий с замещениями хромосом и транслокациями. Широкое распространение среди сортов мягкой пшеницы получила транслокация 1RS.1BL, поскольку она несет гены устойчивости к бурой, стеблевой и желтой ржавчинам и мучнистой росе (*Lr26*, *Sr31*, *Yr9* и *Pm8*, соответственно). Кроме того, предположительно, ее присутствие положительно влияет на показатели продуктивности в зависимости от генетического фона. Другая хромосома ржи – 5R, – несет ген *Se*, определяющий устойчивость к недостатку меди в почве и ген *Vrn-R1*, контролирующей тип развития. Перспективным направлением является получение линий с множественными замещениями/транслокациями для сочетания в одном генотипе большого числа ценных признаков. Ранее были получены линии с пшенично-ржаным замещением хромосом 5 гомеологической группы по ряду сортов мягкой пшеницы, а также линии, сочетающие чужеродное замещение хромосом и транслокацию 1RS.1BL. Однако не была проведена оценка хромосомного состава полученных линий. Целью данной работы являлась идентификация хромосомного состава линий мягкой пшеницы с 5R(5A) и 5R(5D) замещением

хромосом по сортам Мироновская крупнозерная и Пиротрик 28 и линий, сочетающих замещение хромосом 5R(5A) и 5R(5D) и транслокацию 1RS.1BL. Изучение конфигурации хромосом в М1 мейоза у этих линий показало, что у большинства изученных растений наблюдали формирование 21 бивалента. С использованием геномной *in situ* гибридизации (GISH) показано присутствие хромосомы 5R ржи у линий с замещением хромосом 5R(5A) и 5R(5D). Также у одной из линий с комплексной устойчивостью к болезням показано присутствие ржаной хромосомы 5R и T1RS.1BL, в то время как у другой линии обнаружено две транслокации – 1RS.1BL и 5AS.5RL. С помощью специфических для ржи маркеров SCM9, Sec1Gene и *iag95* было показано присутствие транслокации 1RS.1BL и гена *Lr26* устойчивости к бурой ржавчине. С помощью маркера BAMRF к гену  $\beta$  – амилазы показано присутствие хромосомы 5R у пшенично-ржаных замещенных линий. Таким образом, совместное использование GISH-анализа и рожь-специфичных маркеров позволило выявить наличие замещений и транслокаций у изученных пшенично-ржаных линий.

#### **С7-30. КАРТИРОВАНИЕ ГЕНА ЭМБРИОНАЛЬНОЙ ЛЕТАЛЬНОСТИ ПШЕНИЧНО-РЖАНЫХ ГИБРИДОВ (*EML-R1*) С ПОМОЩЬЮ РЕКОМБИНАНТНЫХ ИНБРЕДНЫХ ЛИНИЙ РЖИ**

**Цветкова Н.В.**\*,<sup>1</sup>, **Лыхолой А.Н.**<sup>1</sup>, **Тихенко Н.Д.**<sup>2</sup>,  
**Войлоков А.В.**<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет  
(Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики  
им. Н.И. Вавилова РАН (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: ntsvetkova@mail.ru

У ржи обнаружен мутантный ген (*Eml-R1*), ведущий к гибели пшенично-ржаных зародышей. Гаметическое расщепление по этому гену наблюдали при скрещивании мягкой пшеницы Chinese Spring с межлинейным гибридом ржи (J2xJ17). На основе гибридов второго поколения этой комбинации скрещивания был создан набор рекомбинантных инбредных линий (РИЛ). На первом этапе был использован подход, который позволил установить хромосомную локализацию гена *Eml-R1*. Генотипирование каждой линии РИЛ по изучаемой мутации проводили в четвертом поколении по отношению к микросателлитным маркерам, учтенным у исходных гибридов F<sub>2</sub> J2xJ17. Ген эмбриональной летальности был локализован на длинном плече хромосомы 6R. На втором этапе было проведено картирование мутации *Eml-R1* при учете расщепления по маркерам хромосомы 6R непосредственно у рекомбинантных инбредных линий седьмого поколения. Анализировали три микросателлитных локуса *Xgwm1103* (*Xgwm732*) и *Xgwm751*, а также изозимный локус *Est10*. Для всех четырех маркеров было обнаружено сцепление с геном *Eml-R1*. Микросателлитные маркеры *Xgwm1103* (*Xgwm732*) и *Xgwm751* расположены по обе стороны от гена *Eml-R1* на расстоянии 7,8 и 22,2 % рекомбинации соответственно. Изозимный локус *Est10* расположен от гена *Eml-R1* на расстоянии 25,8 %. Полученные результаты позволили построить фрагмент генетической карты длинного плеча хромосомы 6R: Центромера - *Xgwm1103* (*Xgwm732*) - *Eml-R1* - *Xgwm751* - *Est10*. Обнаруженный нами ген может быть отнесен к генам, мутации в которых ведут к постзиготической межвидовой несовместимости, основанной на негативной генетической комплементации. Этот вывод был подтвержден при анализе пшенично-ржаных гибридов, полученных при скрещивании линии ржи J2 с нули-тетрасомными линиями Chinese Spring. Показано, что в хромосоме 6A, но не 6B и 6D, находится ген, взаимодействующий с *Eml-R1* по этому принципу. Взаи-

действие генов пшеницы и ржи ведет к гибели клеток стеблевой меристемы и не влияет на дифференцировку корневой меристемы. Картирование гена *Eml-R1* открывает перспективы установления молекулярной функции этого гена и механизмов взаимодействия комплементарных генов пшеницы и ржи. Работа поддержана грантом Президента РФ поддержки ведущих научных школ, программой фундаментальных исследований президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития».

#### **С7-31. ЗАДАЧИ И РЕЗУЛЬТАТЫ СЕЛЕКЦИИ ТРИТИКАЛЕ В КРАСНОДАРСКОМ НИИСХ ИМ. П.П. ЛУКЬЯНЕНКО**

**Ковтуценко В.Я.\***, Панченко В.В., Калмыш А.П.

Краснодарский НИИСХ им. П.П. Лукьяненко (Краснодар), Россия

\*e-mail:wheat@mail.ru

В каждой почвенно-климатической зоне практически ежегодно меняется спектр лимитов экологических факторов. Селекция должна учитывать все возможные ситуации и мобильно реагировать на них созданием соответствующих сортов. Нашей селекционной программой определены следующие пути селекции тритикале: повышение продуктивности, устойчивости к основным болезням, зимостойкости и засухоустойчивости, устойчивости к полеганию, улучшение физических и технологических качеств зерна, создание скороспелых и яровых форм, тритикале-двуручек. Применяются следующие методы создания селекционного материала: 1) скрещивание первого поколения (F1) пшенично-ржаных гибридов с тритикале, метод разработан А.Ф. Шульгиным и назван биологическим методом; 2) межсортовые скрещивание гексаплоидных тритикале на основе использования достижений мировой и собственной селекции, использование озимой тритикале в создании яровых сортов и наоборот яровых в создании озимых, последующие межгибридные скрещивания; 3) скрещивание гексаплоидных тритикале с мягкой пшеницей с последующим опылением гибридов пыльной гексаплоидных тритикале. Созданы и внедрены в производство новые сорта тритикале с повышенной зерновой продуктивностью, обладающие комплексной устойчивостью к биотическим и абиотическим стрессам. На 2013 год в списке сортов допущенных к использованию в производстве 9 сортов озимой тритикале: Прорыв, Хонгор, Лидер, Сотник, Валентин 90, Макар, Дозор, Брат, Князь; сорт яровой тритикале Ярило. Испытываются сорта Ровня, Кунак, Кроха, Сват, Жнец, Богдо, Хот. Подготовлены к передачи на испытание в Госкомиссию яровой сорт Ярик и озимый Хлебороб.

#### **С7-32. ДИВЕРГЕНТНЫЕ ФОРМЫ ВТОРИЧНЫХ ГЕКСАПЛОИДНЫХ ТРИТИКАЛЕ (TRITICOSECALE WITTMACK.)**

**Градсков С.М.<sup>1</sup>, Упельник В.П.\*<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия

\*e-mail: vla-upelnik@yandex.ru

Тритикале - недавно созданная сельскохозяйственная культура, поэтому ее филогенетическое изучение является актуальным. Получен полиплоидный ряд из тетраплоидных, гексаплоидных и октоплоидных форм. Уровень генетического разнообразия ниже, чем у представителей рода *Triticum*. Современные гексаплоидные тритикале представлены в основном стабильными амфидиплоидами (AABBRR, 2n=6x=42), включающими

геномы А и В пшеницы (*T. aestivum*, *T. durum*, *T. turgidum*) и диплоидный набор генома R ржи (*S. cereale*), среди которых встречаются формы с хромосомными замещениями и транслокациями. В потомстве от скрещивания октоплоидных и гексаплоидных тритикале наблюдается широкий формообразовательный процесс, который длится несколько поколений за счет геномной рекомбинации. В поздних поколениях гибридов от скрещивания октоплоидных и гексаплоидных тритикале были отобраны гексаплоидные формы с фенотипами колосьев близкими к исходным видам (*T. aestivum*, *T. durum* и *S. cereale*) АД 805, АД1405 и АД 1605. АД 805 - фенотип колоса близкий к *T. aestivum*: колос длинный, белый, веретеновидный, рыхлый, остистый с большим числом колосков (28), большим числом (70) и большой массой (>3г) крупных зерновок (0,051 г); растения низкорослые (1м, ген H1), устойчивы к *B. graminis*, *P. striiformis*, *P. graminis*; толерантны к *P. triticina*; зимостойкость средняя; устойчива к прорастанию зерна в колосе; средняя урожайность зерна 6,94 т/га. АД 1405 – фенотип колоса близкий к *T. durum*: колос средней длины и плотности, красный, остистый, высоко озерненный (44), с крупным зерном (0,047г); растения высотой 1,35м; устойчивы к *B. graminis*, *P. striiformis*, *P. graminis*; толерантны к *P. triticina*; зимостойкость и засухоустойчивость высокие; средняя урожайность 7,02 т/га. АД 1605 – фенотип колоса близкий к *S. cereale*: колос длинный плотный, белый полустистый, с большим числом колосков (27), зерновок (55) большой массы (2,9г) и крупности (0,052г); растения высотой 1,5м, устойчивы к *B. graminis*, *P. striiformis*, *P. graminis*; толерантны к *P. graminis*; зимостойкость выше St; средняя урожайность 7,62 т/га. Полученные дивергентные формы тритикале представляют интерес для селекции на зимостойкость (АД 1405, АД 1605), короткостебельность (АД 805) и продуктивность (АД 805, АД 1405, АД 1605). В результате гибридизации этих форм получены новые перспективные генотипы тритикале, которые проходят комплексное изучение.

#### **С7-33. ВНЕДРЕНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНОГО ОТБОРА И ЭКСПРЕСС-МЕТОДОВ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ЗЕРНА В СЕЛЕКЦИЮ СОРТОВ-ПОПУЛЯЦИЙ У РЖИ**

**Войлоков А.В.\*<sup>1,2</sup>, Уткина Е.И.<sup>3</sup>, Кедрова Л.И.<sup>3</sup>, Чугунова А.В.<sup>3</sup>, Григорьев Я.М.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>3</sup>НИИСХ Северо-Востока им. Н.В. Рудницкого (Киров), Россия  
\*e-mail:av\_voylokov@mail.ru

Предложена схема внедрения индивидуального отбора в селекцию сортов-популяций ржи разного целевого назначения. Схема подразумевает включение мутации автофертильности в селекционируемый материал, проведение однократного самоопыления гибридов, всестороннюю оценку инбредных потомств, переопыление лучших из них по тем или иным показателям, и последующее устранение мутации автофертильности с помощью маркера с восстановлением перекрестного опыления и популяционного гетерозиса. Реализуемый в настоящее время вариант рассчитан на улучшение и диверсификацию сорта Снежана, созданного на основе гена доминантной короткостебельности, и позволяет решить еще одну задачу селекции ржи - добиться константности растений по высоте в пределах сорта. Данные трех лет работы говорят о высокой эффективности отбора по маркеру и перспективности селекционируемого материала в отношении признаков урожайности и устойчивости. Внедрение индивидуального отбора тесно связано с разработкой неразрушающих экспресс-методов оценки качества зерна. Все



прямые методы оценки качества зерна малопродуктивны, трудоемки и проводятся с использованием большого количества зерна, «уничтожаемого» в ходе анализов. Разрешить это противоречие может использование метода инфракрасной (ИК) спектроскопии. Критичным моментом в использовании ИК-спектроскопии является калибровка, которая должна проводиться на материале с максимально возможной изменчивостью по тестируемым показателям. Перспективным для получения референтных данных является использование линий Петергофской генетической коллекции, для 110 из которых с помощью БИК-анализатора «ИнфраЛЮМ ФТ-10» выявлена неоднородность по спектральным характеристикам в диапазоне 8500-12500 см<sup>-1</sup>. Прямая оценка селекционного материала проводится в настоящее время. Вначале ИК-спектры снимаются с зерна отдельных растений каждой из инбредных семей, затем следуют снятие спектра объединенной выборки (семьи) и проведение референтного анализа на ее основе. Урожай с деланки будет использован для построения калибровочных уравнений, а урожай с каждого растения - для оценок тех же показателей индивидуально с помощью предварительно полученных калибровок. В итоге на основании зерна инбредных линий и потомств от самоопыления предполагается создать базу данных для широкого внедрения ИК-спектроскопии в селекцию, семеноводство и товарное производство сортов ржи разного целевого назначения.

Работа поддержана программой фундаментальных исследований президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития»

#### **С7-34. МОЛЕКУЛЯРНОЕ МАРКИРОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ СИСТЕМ ЦМС И САМОФЕРТИЛЬНОСТИ РЖИ (*SECALE CEREALE* L.)**

**Шимко В.Е.\*, Гордей И.А., Носова А.Ю.**

*ГНУ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (Минск), Республика Беларусь*

\*e-mail: shimko@biobel.bas-net.by

Биологические свойства ржи в связи с перекрестным способом опыления и самонесовместимостью благоприятствуют созданию гибридных сортов. Основой высокого гетерозисного эффекта гибридов F<sub>1</sub> озимой ржи является создание константного линейного материала и подбор компонентов скрещиваний. Использование цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС) дает возможность проведения контролируемых скрещиваний у ржи без ручной кастрации. ЦМС обусловлена специфической мутацией плазмогенов и наследуется по материнской линии. Восстановление фертильности осуществляется при взаимодействии такой цитоплазмы (цит-с) с ядерными генами (Rf) восстановления фертильности. Классический метод идентификации цитоплазмы требует анализа 2-3 гибридных поколения. Молекулярно-генетические методы исследований позволяют сократить срок идентификации митохондриальных ДНК (мт-ДНК) мужских стерильных (S) и нормальных (N) растений для различных типов ЦМС. ПЦР-анализ мт-ДНК выполнен с целью идентификации нормальной (N) и стерильной (S) цитоплазмы 25 линий озимой ржи, используя праймеры (cox1, nad6, nad2), описанные Stojalowski (2006). Показано, что тип цитоплазмы связан с определенной комбинацией соответствующих митохондриальных продуктов. Определено 6 образцов МС-линий, соответствующих Р-типу ЦМС, 7 образцов МС-линий, соответствующих G-типу ЦМС, и 12 образцов СФ-линий, соответствующих N-цитоплазме. Используемый nad2 маркер детектировал фрагмент, характерный для последовательности мт-ДНК G-типа цитоплазмы у пяти СФ-линий (N17,18,20,21,23). Как показали результаты исследований Stojalowski несоответствие

при идентификации мт-ДНК может свидетельствовать о наличии скрытого фактора ЦМС и его корреляции с наблюдаемым митотипом. Выявленные различия связаны с генетическими особенностями двух систем ЦМС, а также и самих СФ-линий. Использование молекулярных маркеров к мт-ДНК позволило идентифицировать МС-формы Р-, G-типов и СФ-линии озимой ржи. Маркированные изучаемые линии использованы в качестве компонентов скрещиваний для получения гибридов F<sub>1</sub>. Изучали уровень восстановления фертильности пыльцы у гибридов F<sub>1</sub> от скрещиваний 5 МС-форм с 10 СФ-линиями – кандидатами в восстановители фертильности. Фертильность пыльцы у гибридов F<sub>1</sub> варьировала от 23% до 98%. Этот показатель зависел от отцовского, материнского компонента скрещивания, и от характера взаимодействия двух генотипов. Фертильность пыльцы и колоса у гибридов F<sub>1</sub>, полученных при скрещивании МС-формы на основе Р-типа ЦМС и исследуемых СФ-линий (N17,18,20,21,23) был ниже на 20-40% по сравнению с гибридами на основе G-типа ЦМС. Данные линии могут использоваться в качестве восстановителей фертильности при скрещивании с МС-формами G-типа, и в качестве потенциальных закрепителей стерильности для МС-форм Р-типа.

#### **С7-35. СОЗДАНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ АВТОФЕРТИЛЬНЫХ ИНЦУХТ-ЛИНИЙ ОЗИМОЙ РЖИ**

**Титаренко А.В., Титаренко Л.П., Козлов А.А.\*, Вертий Н.С.**

*ГНУ Донской НИИСХ Россельхозакадемии (п. Рассвет), Россия*

\*e-mail: kozlov86@bk.ru

Среди зерновых культур рожь занимает уникальное положение. Она обладает наибольшим потенциалом адаптационных характеристик, прежде всего к абиотическим стрессорам, что вполне оправдано связывается с историей ее доместикации. С другой стороны, как перекрестноопыляемому растению, ржи присущ высокий генетический полиморфизм. И именно из-за этого свойства селекционная работа с рожью затруднена – осложняется сохранение материала, идентификация рецессивных генов, невозможен индивидуальный отбор. Решение подобных проблем возможно путем использования инцухт-линий. Однако их создание в свою очередь сопряжено с известными трудностями – это высокая автостерильность и нарастающая в ряду поколений инбредная депрессия. Необходим поиск соответствующего «материала». Нами в результате гетероплоидного скрещивания гексаплоидного тритикале и диплоидной ржи, беккроссирования гибрида тритикале, целенаправленного формирования популяции и отборов из нее был создан аллополиплоидный сорт озимой ржи Славида, отличительной особенностью которого стала высокая автофертильность. Данная особенность была использована для создания коллекции автофертильных линий. При первом самоопылении с индивидуальной изоляцией колоса на 218-ти растениях завязываемость зерен составила в среднем 33,7%. Самоопыленные линии первого поколения (I<sub>1</sub>) показали снижение автофертильности до 23,7%. В последующих же поколениях (I<sub>2-7</sub>) наблюдался четкий рост автофертильности инцухт-линий: 33,0; 41,4; 37,3; 39,1; 38,9; 49,9% соответственно. То есть, принудительное самоопыление, сопряженное с отбором по озерненности колоса явилось эффективным способом создания высокоавтофертильных генотипов ржи. При этом, наряду с ростом автофертильности, проявлялось небольшое действие инбредной депрессии и даже появление нежизнеспособных форм, в частности, альбиносов. Те не менее, получаемые инцухт-линии имели довольно неплохие показатели продуктивности. Так, среднеколлекционное значение массы зерна с колоса линий 4-7-го поколений составило 0,8г при инцухте и 1,3г при свободном опылении, что

вполне достаточно для их сохранения и размножения. Наряду с вышеприведенными значениями усредненных показателей значительный интерес представляет размах их варьирования. По автофертильности, например, для инцухт-линий седьмого поколения коэффициент вариации составил 38,4%. Такое варьирование указывает на большое разнообразие коллекции по рассматриваемому показателю, несмотря на то, что основное количество инцухт-линий сосредоточено в интервале озерности колоса от 30 до 70%. Другие морфобиологические показатели инцухт-линий имеют аналогичный характер распределения. Бесспорно, практическая значимость линий во многом определяется их урожайностью, которая по линиям четвертого поколения составляла 44,0-79,8% от исходной популяции. Сферой использования инцухт-линий ржи являются популяционная и гетерозисная селекция, отдаленная гибридизация.

### **C7-36. ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПРИЗНАКОВ ОЗИМОЙ РЖИ**

**Тороп Е.А.**\*, **Чайкин В.В.**, **Тороп А.А.**

ГНУ Воронежский НИИ сельского хозяйства

им. В.В. Докучаева РАСХН (Воронежская область), Россия

\*e-mail: helenatorop@yandex.ru

Известно, что изменение признаков и свойств растений в связи с изменением условий их выращивания является внешним проявлением путей их адаптивного развития. Оно осуществляется в основном за счет модификационной изменчивости в пределах нормы реакции и представляет собою динамический процесс функционально-метаболической и морфо-анатомической перестройки растений. С целью познания закономерностей этого процесса у новых морфотипов озимой ржи, созданных в лаборатории селекции института, они в течение трех лет выращивались в разных условиях. В качестве экспериментально регулируемого пула факторов жизнеобеспечения использовали 6 градиентов густоты посева: 100, 200, 400, 600, 800 и 1000 зерен на 1 м<sup>2</sup>. Изучали 19 признаков и свойств растений у прочностебельного морфотипа, морфотипа с эректоидной ориентацией листьев, полукарликового, безлигильного и лигильного аналогов и сортов-стандартов Таловская 15 и Саратовская 5. На изменение условий признаки реагировали по-разному. У всех изучавшихся 6 морфотипов они разделились на слабо- и сильноварьирующие. По слабоварьирующим ранги, занимаемые морфотипами при густоте 100 растений на 1 м<sup>2</sup>, с увеличением густоты, практически, не менялись: коэффициент ранговой корреляции находился в пределах 1 ... 0,83. Тип кривых распределения значений этих признаков был нормальным и с изменением густоты не менялся. Ранги, занимаемые морфотипами по сильноварьирующим признакам, изменялись, иногда начиная уже с густоты посева 200, но, как правило, с 400 растений на 1 м<sup>2</sup>. Особенно четко это проявилось на общей и продуктивной кустистости, количестве зерен с колоса. С изменением густоты посева кривые распределения их значений становились асимметричными, что свидетельствует о переопределении генетической системы их контроля. Эти факты следует учитывать в селекции. Для повышения эффективности селекционной работы к отбору по элементам продуктивности необходимо подходить дифференцированно. По относительно стабильным признакам (высота растения, масса 1000 зерен, натурная масса, устойчивость к полеганию, выживаемость растений, урожай биомассы и зерна с деланки) отбор можно проводить как при разреженных посевах, так и при посевах с нормой высева, принятой в производстве, по нестабильным признакам (общая и продуктивная кустистость, продуктивность растения) селекцию необходимо вести только в условиях близких к производственным.

### **C7-37. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА *HvITR1*, ОТВЕЧАЮЩИХ ЗА ПОМУТНЕНИЕ ПИВА, СРЕДИ СОРТОВ ЯЧМЕНЯ, ЗАРЕГИСТРИРОВАННЫХ В УКРАИНЕ**

**Степаненко А.И.**<sup>1</sup>, **Моргун Б.В.**<sup>\*1</sup>, **Степаненко Е.В.**<sup>1</sup>, **Полищук С.С.**<sup>2</sup>, **Рыбалка О.И.**<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины (Киев), Украина;

<sup>2</sup>Селекционно-генетический институт НААН Украины (Одесса), Украина

\*e-mail: molgen@icbge.org.ua

Одним из факторов, вызывающих старение пива или его загрязнения в процессе хранения, является ВТИ-СМЕ протеин (barley trypsin inhibitor of the chloroform/methanol type). Кодирующий его ген, локализован в 3Н хромосоме ячменя обыкновенного (*Hordeum vulgare* L.). Этот ген, получивший название *HvITR1* (X65875), имеет два аллеля: активный SE+ve, продуцирующий ВТИ-СМЕ протеин, и неактивный SE-ve, экспрессия которого не приводит к биосинтезу данного протеина. Исходя из этого, сорта ячменя, используемые при пивоварении должны содержать неактивный аллель SE-ve и, соответственно, не содержать ВТИ-СМЕ протеина, поскольку он ухудшает качество пива в процессе его хранения. При работе с ячменем целесообразно контролировать данный показатель, используя молекулярные маркеры. Выбирая сорта ячменя пивоваренного направления, следует учитывать аллельное состояние гена *HvITR1*. Целью данной работы была разработка технологии маркировки и выявление распространения аллелей SE-ve и SE+ve в коллекции сортов ярового ячменя, коммерциализированных в Украине. Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) на ген *HvITR1* использовали систему SNAP маркеров предложенную Ye с соавт. (2011). Чтобы интенсифицировать исследования были дополнительно разработаны мультиплексные ПЦР с праймерами к референтному гену ячменя *g3pdh*. Визуализация результатов проводилась с помощью горизонтального электрофореза в агарозном геле. Оба аллеля давали ампликоны одинаковой длины в 455 п.н., но специфично взаимодействовали с разными праймерами: аллель SE+ve – с праймерами SE-F, SE-R1, а SE-ve – с SE-F, SE-R2. В результате исследования 109 сортов ячменя в 82 образцах был идентифицирован активный аллель SE+ve, а в 27 – неактивный аллель SE-ve. Несколько образцов оказались гетерогенными, в них обнаружены оба аллеля. Полученные результаты свидетельствуют о преимущественном распространении активного аллеля SE+ve среди собранных генотипов культивируемых сортов, что не совсем желательно. Распределение частот по аллельному состоянию гена *HvITR1* имеет важное практическое значение в селекции ярового ячменя пивоваренного направления, поскольку контроль наличия аллеля SE-ve является критическим параметром при создании и выборе пивоваренно-ценных сортов ячменя.

### **\*C7-38. НАСЛЕДОВАНИЕ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ВЕГЕТАЦИОННОГО ПЕРИОДА У ГИБРИДОВ ЯЧМЕНЯ Новрузлу Г.А.**

Азербайджанский научно-исследовательский институт земледелия (Баку), Азербайджан

\*e-mail: novruzlu\_garib@mail.ru

В селекции зерновых культур вегетационный период является ведущим признаком и определяется, как генетическими свойствами сорта, так и совокупностью внешних условий. Следует отметить, что о наследовании длины вегетационного периода в настоящее время существуют различные мнения. Большинство исследователей считают, что в первом поколении у гибридов

ячменя раннеспелость наследуется по типу доминирования или сверхдоминирования. Отмечается также промежуточный и рецессивный тип наследования раннеспелости в зависимости от биологических особенностей генотипов. Во втором поколении наблюдается широкий размах изменчивости этого показателя. С целью изучения наследования продолжительности вегетационного периода у гибридов ячменя и введения новых раннеспелых сортов с высокой продуктивностью, может дать высокий эффект, лишь правильный подбор родительских форм для скрещивания. Поэтому нами были отобраны высокоурожайные, солеустойчивые формы из ИКАРДА - Arar/Lignee527/3/Mammut//Gloria'S/Come'SICB01-0246-17TR-0AP, Eldorado/5/CM67/3/Apro //Sv.02109/Mari/4/CarboICB01-0227-14TR-0AP, Roho/4/Zanbaka/3/ER/Apm//Lignee 13ICB 94-0595, WI-2/Tadmor ICB02-0945-0PTH-3PTH-2PTH-..., Arar/Lignee527//Alanda ICB93-0373-0AP-3AP-0A. ЭВУТ-W № 16,27; ИВУТ-LRA № 12, 23, 47 и др. В качестве скороспелых использованы - ЭКJВОН-LRA, Libya/F6NB\_7 ICB02-0178-0AP-10TR-0AP, NAKB93-371/6/Hml-02/5/Cq/Cm//Ap. В скрещиваниях также использованы местные сорта Карабах 22, Карабах 7, Бахарлы и др. В комбинациях скрещиваний использовали 42 родительские формы, из которых 7 считаются местными. Скрещивания проводили в 34 комбинациях, фертильность цветков в скрещиваниях в среднем колебалась от 26,3 до 65,1 %. При использовании местных сортов в качестве материнской формы, наблюдается более высокая фертильность цветков (45,7-65,1 %). По нашим данным, продолжительность вегетационного периода у родительских форм колебалась от 191 до 214 дней. Следует отметить, что у гибридов F<sub>1</sub> обнаружены различные типы наследования длины вегетационного периода: от сверхдоминирования до промежуточного. У 6,4 % гибридов наблюдалось сверхдоминирование по скороспелости. Большинство гибридных комбинаций имеет промежуточный (52,8 %) тип наследования. Частичное и полное доминирование позднеспелости наблюдалась у 10,3 % гибридов. 3,8 % гибрида созревают позднее, чем самая позднеспелая родительская форма. Промежуточный тип наследования наблюдается в тех комбинациях, где родительские формы резко отличаются по длине вегетационного периода. Когда родительские формы имели одинаковую длину вегетационного периода, гибриды F<sub>1</sub> или созревали одновременно с ними, или оказались позднеспелыми. Сравнительно коротким вегетационным периодом характеризуются гибридные комбинации ЭКJВОН-LRA x Карабах 22, Libya/F6NB7 ICB02-0178-0AP-10TR-0AP x Джалилабад 19, ЭКJВОН-LRA x PENCO/CHEVRON-BAR/3/ARUPO/ K8755//MORA CBSS и др. При анализе гибридов второго поколения, нами обнаружены раннеспелые гибридные формы, которые рекомендованы, как исходный материал для селекции на скороспелость.

#### С7-39. МУТАГЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА РАЗЛИЧНЫЕ ФОРМЫ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ

*Носков А.Н., Дудин Г.П.\**

*Вятская государственная сельскохозяйственная академия (Киров), Россия*

\*e-mail: bublik1161@yandex.ru

На кафедре биологии растений селекции и семеноводства, микробиологии Вятской ГСХА в течение длительного времени ведется работа по изучению мутагенного действия низкоэнергетических физических факторов – лазерного красного излучения (ЛКС), дальнего красного (ДКС). В данном эксперименте ставились задачи: изучить действие лазерного красного излучения на различные формы ярового ячменя и получить мутанты, имеющие ценные хозяйственно-биологические признаки (более высокую продуктивность, укороченный вегетационный

период, устойчивость к полеганию, вредителям и болезням). Для обработки использовали семена ячменя сорта Луч, лазерный мутант 1/4, форму 84 (двойной дителосомик по первой хромосоме) и гибриды (161, 16a1, 16a2, 171, 17a), полученные от скрещивания формы 84 с мутантом j. Для лазерного облучения семян использовали гелий-неоновый лазер (ОКГ-12-1) с длиной волны 632.8 нм и плотностью мощности 0,1 мВт/см<sup>2</sup>. Экспозиция воздействия 120 минут. В первом поколении стимулирующее действие от обработки семян лазерным облучением отмечено во всех изучаемых вариантах опыта, кроме варианта с формой №84. В М2 с момента появления массовых всходов определяли тип и частоту хлорофилльных мутаций. В опыте частота хлорофилльных мутаций изменялась от 0.43% (вариант 16a2 ЛКС) до 3.77% (вариант форма 84 ЛКС). Достоверное увеличение частоты мутаций отмечено в варианте форма 84 ЛКС. В контроле хлорофилльные мутации не отмечены. Об эффективности изучаемого фактора свидетельствует и спектр хлорофилльных мутаций. Всего в опыте было выделено 8 типов хлорофилльных мутаций. Наиболее распространенными были: *claroviridis*, характеризующиеся светло-зеленой окраской листа (13 семей), *viridostriata*, у которых чередуются продольные зеленые и бледно-зеленые полосы (11 семей). Результаты учета хлорофилльных изменений показали, что их частота и спектр зависит от генотипа ячменя. Во втором поколении кроме хлорофилльных мутаций отмечены семьи с другими измененными признаками. Морфофизиологическая изменчивость во втором поколении варьировала от 0.77% до 8.19%. Наибольшая частота изменений отмечена в вариантах 16a2 ЛКС, j ЛКС и 16a1 ЛКС – 8.19, 6.36 и 5.91 %. Не выявлены изменения в варианте Луч, форма 84, 16№ и 16a2 без обработки лазера. В М3 процент семей с морфофизиологическими изменениями незначительно изменился по сравнению с М2. Наибольшая частота – 6.9, 5.3 и 4.2% данных мутаций в М3 отмечена в вариантах 16a2 ЛКС, j ЛКС, 16a1 ЛКС. Получено несколько форм с хозяйственно полезными признаками. Эти формы могут быть использованы в селекции ячменя. Полученные результаты свидетельствуют, что эффект лазерного облучения в значительной степени зависит от генотипа исходных форм ячменя.

#### С7-40. ДЕЙСТВИЕ ВОДЫ ОТКРЫТЫХ ВОДОЕМОВ ОКРЕСТНОСТЕЙ Г. КИРОВО-ЧЕПЕЦКА НА КУЛЬТУРУ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ СОРТА ИЗУМРУД

*Буддакова М.С., Дудин Г.П.\**, *Балахонцева Л.Н.*

*Вятская государственная сельскохозяйственная академия (Киров), Россия*

\*e-mail: bublik1161@yandex.ru

В связи с постоянным антропогенным воздействием на окружающую среду и ухудшением качества жизни населения, рассмотрим взаимосвязь двух научных направлений: генетики и экологии, при воздействии химических агентов на высшие растения. Цель работы – выявить действие сточных вод промышленных и коммунальных предприятий и их компонентов на растения ячменя. Исследования проводились на опытном поле Вятской ГСХА. Замачивание семян в дистиллированной воде (контроль) и водных растворах, отобранных проб семи точек водосбора зоны антропогенной деятельности города Кирово-Чепецка, проводилось в течение 12 часов. Отбор проб воды проводили до периода весеннего паводка. В первом поколении проводили фенологические наблюдения, учет полевой всхожести семян и выживаемости растений, анализ развития элементов продуктивности ячменя. Максимальная концентрация загрязняющих веществ (ЗВ) в пробах воды выявлена в озере Березовом: по нитрат-ионам, ионам-аммония и мышьяку с превышением ПДК (предельно-допустимой



концентрации). На формирование качества воды, в этой контрольной точке влияет поверхность водосбора, включающая хвостохранилище и шламонакопители комбината ОАО «ЗМУ КЧХК». В изучаемых вариантах полевая всхожесть семян варьировала от 53,2 до 70,4 % и во всех вариантах опыта превысила контроль (53,2%). Достоверное отклонение всхожести семян от контроля наблюдалась в контрольной точке р. Вятка выше сброса сточных вод и составила – 70,4 %. Выживаемость растений при воздействии факторов была в пределах ошибки опыта. Самый высокий процент выживаемости растений выявлен от водного раствора озера Ивановского – 81,8 %. Значение выживаемости в варианте оз. Ильинское (фон) – 70,3 %, оказалось меньше, чем в контроле. Анализ элементов структуры продуктивности показал, что в контрольной точке – р. Вятка выше сброса сточных вод достоверно снизилось количество зерен (на 1,9 шт.) и массы зерна с колоса (на 0,18 г). От воды озера Ивановского наблюдалось достоверное увеличение длины колоса (на 1,1 см) и количества колосков в колосе. Увеличение числа колосков в колосе отмечено и в варианте оз. Березовое. Обработка семян водой из контрольной точки озера Ивановского, показало, что общая кустистость увеличилась на 20 %, а продуктивная – на 23 %. В остальных вариантах значение показателей изменились не существенно. Таким образом, замачивание семян перед посевом в водные растворы зоны промышленной деятельности г. Кирово-Чепецка оказали стимулирующее влияние на полевую всхожесть семян ячменя, несущественное влияние на выживаемость растений. Обработка семян вызвала достоверные изменения кустистости растений, увеличение длины колоса и количества колосков в колосе ячменя.

#### **С7-41. ПЕРЕНОС ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ РИСА К ПИРИКУЛЯРИОЗУ С ПОМОЩЬЮ КОНТРОЛЯ ДНК-МАРКЕРОВ**

**Костылев П.И.**

*ВНИИ зерновых культур им. И.Г. Калининко (Зерноград), Россия*  
e-mail: p-kostylev@mail.ru

Рис является одной из основных возделываемых культур мира. Болезни риса могут нанести значительный ущерб. К наиболее опасным относится пирикуляриоз, потери урожая в обычные годы составляют 5-20%, а в годы эпифитотий – до 100%. Одна из стратегий получения устойчивых сортов риса – объединение в одном генотипе нескольких генов со своим вкладом по данному признаку. «Пирамидированные» линии с различными комбинациями генов устойчивости полезны для создания сортов с длительной устойчивостью к патогену. Идентификация молекулярных маркеров, тесно сцепленных с генами, обеспечивающими устойчивость растений к патогену, облегчает селекционную работу в данном направлении. Цель работы – создание линий риса с 5-ю генами устойчивости к пирикуляриозу: *Pil*, *Pi2*, *Pi33*, *Pita*, *Pib* с помощью метода молекулярного маркирования с использованием микросателлитных маркеров на гены устойчивости к пирикуляриозу, полимеразной цепной реакции (ПЦР) и электрофореза. На первом этапе работы были получены 6 гибридов от скрещивания сортов Боярин и Вираз с тремя донорами устойчивости к пирикуляриозу, несущими гены *Pil*, *Pi2*, *Pi33*. После анализа во ВНИИ риса выделены гомозиготы по доминантным аллелям устойчивости. На втором этапе работы, когда появились доноры генов *Pita* и *Pib*, была проведена гибридизация с ними форм, совмещающих в генотипе гены *Pil*, *Pi2*, *Pi33*. С 93 лучших гибридных растений  $F_2$  отобрали листья для анализа ДНК во ВНИИСБ (г. Москва) с использованием одного маркера по каждому гену. У всех гибридов расщепление по

маркерам не укладывалось в рамки менделеевского соотношения 1:2:1. Это связано с влиянием отбора, так как для анализа отбирали лучшие в селекционном отношении растения с безостыми фертильными колосками и хорошо вызревшим зерном. По результатам анализа удалось выделить один гомозиготный по всем пяти доминантным аллелям образец риса. Теоретическая вероятность появления одного гомозиготного растения по пяти доминантным генам составляет  $1/1024$ , в нашей работе оно обнаружено из 63 образцов. Кроме того, выделены 12 линий, имеющих все 5 генов, но некоторые из них в гетерозиготном состоянии. Из этих гибридов значительно легче и вероятней отобрать полные гомозиготы по доминантным аллелям устойчивости. Работа в этом направлении продолжается.

#### **С7-42. СОЗДАНИЕ ХОЛОДОСТОЙКИХ СОРТОВ РИСА В РАМКАХ КОНСОРЦИУМА СТРАН С УМЕРЕННЫМ КЛИМАТОМ**

**Харитонов Е.М., Скаженник М.А. \*, Воробьев Н.В., Дзюба В.А., Чухирь И.Н., Пшеницына Т.С., Савенко Е.Г., Глазырина В.А., Шундрин Л.А.**

*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт риса (Краснодар), Россия*  
\*e-mail: sma\_49@mail.ru

В России рис возделывается в самой северной зоне рисосеяния и поэтому здесь он испытывает отрицательное влияние пониженных температур в период прорастания семян, получения всходов, а также при созревании зерна и его уборке. Перед селекционерами стоит главная задача создать сорта, устойчивые к пониженным температурам в период образования всходов, не снижающие полевую всхожесть и обладающими повышенной силой роста семян. Цель работы – создать и оценить гибридный материал, устойчивый к пониженным положительным температурам в фазу прорастания семян и образования всходов и стадию мейоза для использования его при создании холодоустойчивых сортов риса. Исследования выполнены в 2009-2012 годах во ВНИИ риса с привлечением холодоустойчивого материала, полученного от Международного Консорциума по исследованиям риса в странах с умеренным климатом. Оценка к пониженным температурам в стадию мейоза проведена в  $F_3$  гибридах путем помещения растений в климатическую камеру с температурой воздуха и воды в +17 °С в течение 10 дней перед цветением риса. Высокую холодоустойчивость в этот период показали два стандарта (Южная Корея) и гибридная комбинация между ними. Высокая холодоустойчивость наблюдалась в гибриде Серпантин / Jinbubyeo. Но последняя из них имеет преимущество по длине вегетационного периода, который составил 115 дней, что приемлемо для возделывания в зоне Краснодарского края. Отбор лучших растений по продуктивности проводили с учетом среднего значения числа и массы зерна с метелки плюс удвоенное значение сигмы (среднее квадратическое отклонение). Размножены гибридные зерновки риса, полученные от насыщающих скрещиваний по 18 комбинациям. По каждой гибридной комбинации, в зависимости от количества репродуктивных зерен, получено от 50 до 330 г зерна. Отобраны растения с хозяйственно ценными признаками. Получены дигаметоиды методом культуры пыльников *in vitro*. Эти исследования были направлены на быструю стабилизацию генотипа гибридов, полученных в результате скрещивания между стандартами на холодоустойчивость Jinbubyeo и Odaebueo и раннеспелыми сортами риса российской селекции Новатор и Серпантин. Была проведена оценка константных линий риса (22 ДГ линий) на холодоустойчивость в фазу прорастания семян при пониженной температуре +14 °С. Величине проростков на 13 сутки ди-

гаплоидных линий варьировала от 0,40 до 0,81 см, а скорость прорастания изменялась от 4,0 до 9,8 суток. По этим показателям наиболее близкой к контролю была линия Л 77 (F1 Jinbubyeo x Серпантин). Поэтому она заслуживает включения её в исходный материал для создания холодостойких сортов риса.

#### **С7-43. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ СОИ (*GLYCINE HISPD* (МОСНСН) МАХ) ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ В ЮЖНОЙ ЗОНЕ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ**

**Григорьева А.В.**

ГНУ Донская опытная станция им. Л.А. Жданова ВНИИМК  
Россельхозакадемии (Ростов-на-Дону), Россия  
e-mail: antsyganova@mail.ru

Соя является важной сельскохозяйственной культурой, и вместе с тем представляет сложный селекционный объект в силу своих биологических особенностей (чувствительности к длине дня, повышенной требовательности к теплу и влаге). Успешная селекция любой культуры предполагает подбор исходного материала, обладающего высокой продуктивностью. Чем он богаче и генетически разнообразнее, тем быстрее можно получить ожидаемый результат. В связи с этим целью работы было изучение коллекционных образцов по хозяйственным и биологическим признакам сои. Объектом исследования послужили сортообразцы ВНИИЗК им. И.Г. Калининко, коллекционные образцы ВИР им. Н.И. Вавилова, а также сорта отечественной селекции. Всего за три года было проанализировано 136 образцов. В течение вегетации проводились фенологические наблюдения, отмечались фазы цветения, продолжительность цветения, начало и полного созревания культуры. Оптимальным периодом вегетации считается такой, при котором семена успевают созреть до наступления заморозков. В условиях Ростовской области ежегодно созревали сорта сои с вегетационным периодом 90-130 дней. Селекцию на урожайность проводят по следующим признакам: число семян в одном бобе, масса 1000 семян, число продуктивных узлов на стебле, число бобов на растении достигших созревания. Наибольшим числом узлов на растении (более 20шт.) характеризовались сортообразцы: Азовская, Октябрь 70 (к-9774), М-27 (к-11038), Гамма 85. На общую продуктивность, а также компактность растений сои (что важно при уборке) влияет признак "число бобов". Максимальное число бобов (более 20 шт.) в среднем за два года сформировали к моменту созревания следующие образцы: Азовская, Holesavsska, Л-33, Гамма 85, Dunfield (Т-9) Elrf 2, Flambeon (к-5496), Jacques-74 (к-9161). Число семян на растении свидетельствует о высокой семенной продуктивности растений сои. Более 70 штук на растении имели следующие образцы: Holesavsska, Л-33, Arctic Flambeon (к-5496), Jacques-74 (к-9161), Октябрь 70 (к-9774), М-27 (к-11038). Выделено 12 образцов с крупными семенами массой 1000 более 180 г. В результате проведенной оценки по комплексу признаков коллекционных образцов сои в условиях южной зоны Ростовской области выделены образцы, у которых высокая продуктивность сочетается с повышенным проявлением отдельных хозяйственно ценных признаков (высокого числа бобов, семян, узлов на растении, массой 1000 семян): Holesavsska, Л-33, Хыркен 11 (к-10621), Салтус (к-11126), Октябрь 70 (к-9774), М-27 (к-11038). Выделенные источники позволяют создать разнообразный исходный материал для селекции сои в южной зоне Ростовской области.

#### **С7-44. ОСОБЕННОСТИ СИМБИОТИЧЕСКОЙ АЗОТФИКСАЦИИ НУТА (*CICER ARIETINUM* L.) В УСЛОВИЯХ ОРЛОВСКОЙ ОБЛАСТИ**

**Донская М.В.**

ГНУ ВНИИ зернобобовых и крупяных культур Россельхозака-

демии (п. Стрелецкий), Россия

e-mail: nmaria\_87@mail.ru

Нут (*Cicer arietinum* L.) является ценной зернобобовой культурой и отличается высокой питательностью, засухоустойчивостью и жаростойкостью. По литературным данным растения нута в симбиозе с клубеньковыми бактериями *Mesorhizobium ciceri* способны фиксировать от 60 до 160 кг/га молекулярного азота воздуха. Основным условием для симбиоза является наличие в почве специфического штамма ризобий. Для изучения отзывчивости нута на инокуляцию азотфиксирующими бактериями *Mesorhizobium ciceri* (штамм 527) и грибами арбускулярной микоризы *Glomus* sp. в 2010-2012 гг. закладывали опыт на 13 сортообразцах. У изученных образцов на корнях растений в контрольном варианте клубеньков не было, что указывает на отсутствие специфических для нута азотфиксирующих бактерий в почвенной микрофлоре Орловской области. При обработке биопрепаратами клубеньки сформировали все сортообразцы. Наибольшее число клубеньков (79 шт.) отмечено у сорта Краснокутский 123 в варианте с инокуляцией семян ризоторфином. Максимальная нитрогеназная активность в этом варианте отмечена у сорта Устойчивый 3/65 (169,27 мкг N<sub>2</sub>/раст./час). В варианте с двойной инокуляцией наибольшее значение нитрогеназной активности было зафиксировано у сорта Краснокутский 123 (256,16 мкг N<sub>2</sub>/раст./час). Применение микробиологических препаратов увеличивало продолжительность вегетационного периода сортообразцов на 2-7 суток по сравнению с контролем. Использование микробиологических препаратов повышало биомассу растений на 2-33,5%, высоту растений на 0,9-9,4%, семенную продуктивность на 4,1-69,4% по сравнению с контролем. В отдельные годы применение микробиологических препаратов повышало урожайность нута на 0,1-1,5 т/га по сравнению с контролем, в среднем за три года на 0,1-0,7 т/га. Выделены генотипы, отличающиеся высокой отзывчивостью на применение микробиологических препаратов (к-526 (Колумбия), к-1507 (Индия), Зерноградский 36, Краснокутский 36, Краснокутский 195, Заволжский). Они могут быть использованы в сопряженной селекции растительно-микробных систем на повышение эффективности симбиоза. Исследования поддержаны грантом РФФИ в рамках проекта № 12-04-97552.

#### **С7-45. ЗНАЧЕНИЕ ГЕНОФОНДА В СЕЛЕКЦИИ КЛЕВЕРА ЛУГОВОГО**

**Полюдина Р.И.\*, Гришин В.М.**

ГНУ СибНИИ кормов Россельхозакадемии (Новосибирск), Россия

\*e-mail: polyudina@ngs.ru

В повышении эффективности селекционной работы с клевером луговым особое значение имеет генетический фонд, теоретические основы формирования которого разработаны академиком Н.И. Вавиловым, установившим ряд важнейших закономерностей в наследственной изменчивости и географическом распространении растений. Он обосновал закон гомологических рядов наследственной изменчивости признаков видов, родов и семейств. Исходный материал, как считал Н.И. Вавилов, преддрекает успех селекционной работы, поэтому правильный выбор и использование его в селекции имеют большое значение. Исходным материалом для селекции клевера лугового служат дикорастущие популяции, местные сорта, отечественные и зарубежные селекционные сорта, а также формы, созданные синтетическим путем в процессе селекции с помощью внутривидовой гибридизации, полиплоидии, мутагенеза, метода поликросса и отборов. Наиболее рас-

пространственным методом создания синтетических популяций является эколого-географический метод, когда в качестве исходных форм берут не отдельные биотипы, клоны, а в целом популяции, различающиеся по эколого-географическому происхождению. В качестве исходного материала для питомника поликросса использованы 36 популяций клевера лугового различного эколого-географического происхождения, пригодных для произрастания в местных условиях. Сложногибридные популяции (СПП) формировали из лучших поликроссных потомств, обладающих высоким эффектом гетерозиса (+11...147%) как по отдельным, так и по ряду хозяйственно-ценным признакам, в сравнении с исходными материнскими сортами на основе поликроссных потомств: ♀ Северянин, Дуванский м., Уфимский м., Томский м., Печорский улучшенный, Чаинский м., Казачинский м., Лев Сибири, Пермский м. сформировано 8 сложногибридных популяций – СНК 10...СНК 17, две из которых были переданы на ГСИ – СибНИИК 1 и Родник Сибири и включены в госреестр с 1993 и с 1997 г. Синтетические популяции (Syn<sub>0</sub>) включали исходные материнские формы Томский м., Кировский м., Кыштымский с высокой (+23...125%) общей комбинационной способностью по кормовой продуктивности; и сорта Казачинский м., Томский м., Казачинский 1, Тулунский, Северянин, Лев Сибири, Котельнический м. и Пермский с высокой (+50...121%) специфической комбинационной способностью. Сформированы 2 синтетические популяции СНК 20 и СНК 21. СНК 21 – сорт Атлант включен в госреестр с 2007 г. по пяти регионам РФ. За 25-летний период работы по программе ТОС «Клевер» в результате совместных исследований создано для различных почвенно-климатических зон России и Белоруссии 13 сортов клевера нового поколения, в том числе, раннеспелые тетраплоидные – Памяти Лисицына и Метеор.

#### **С7-46. ВНУТРИВИДОВАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ КЛЕВЕРА ПОЛЗУЧЕГО И КРИТЕРИИ ОТБОРА ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ**

Трухан В.А.

ГНУ ВИК Россельхозакадемии (Лобня), Россия

\*e-mail: vtrukhan@yandex.ru

Продолжительность жизни отдельного растения и, соответственно, сохранение его генотипа ограничено временем самой жизни этого растения. Генотип же популяции имеет другие качества и может существовать долго. Поэтому создание новых сортов бобовых многолетних трав строится на основе синтеза популяции из 4-15 высокопродуктивных элитных растений с заданными свойствами. Сорта и дикорастущие популяции клевера ползучего (*Trifolium repens* L.) в своих генотипах под действием отбора накапливают различные гены. Это обеспечивает им адаптацию в конкретных экологических условиях. Изучение генетики популяций различного эколого-географического происхождения позволяет провести объективную оценку и отбор генотипов элитных растений, которые в дальнейшем могут быть использованы в качестве исходного материала для синтеза новых сортов. В результате проведенных исследований по оценке коллекционного материала клевера ползучего, представленного образцами из стран Европы, Северной Америки и Новой Зеландии, было установлено, что образцы неоднородны в пределах вида по комплексу морфологических, биологических и биохимических признаков. Оценка мировой коллекции клевера ползучего показала, что окультуренные подвиды *hollandicum* и *giganteum*, характеризующиеся более крупными листовыми пластинками, толстыми, длинными цветоносами и черешками листьев, в сравнении с популяциями подвита *silvestre*, при формировании син-

тетических сортов нового поколения представляют интерес для селекции в качестве исходного материала. В наших исследованиях были обнаружены тесные корреляционные связи между формой куста растений и признаками, определяющими экологическую пластичность популяций. На основе полученных данных по корреляции проводился направленный отбор и гибридизация исходных элитных растений. Основными критериями отбора служили следующие признаки растений: высокая семенная и кормовая продуктивность, качество кормовой массы, архитектура растения и совпадение сроков цветения растений, использующихся в совместных гибридных комбинациях. Для оценки популяций проводилось также изучение сопутствующих признаков, определяющих параметры семенной и кормовой продуктивности растений. Это признаки, такие как форма и диаметр куста, мощность и высота растений, сроки цветения растений в первый и последующие годы жизни, зимостойкость и устойчивость к болезням, длина черешка листа и длина цветоноса, количество головок на растении, содержание сырого протеина и цианогенных гликозидов. В результате гибридизации и дальнейших отборов удалось получить новые формы клевера ползучего с заданными параметрами по форме куста и с повышенной экологической устойчивостью.

#### **С7-48. НОВЫЕ СОРТА ЛЮЦЕРНЫ ИЗМЕНЧИВОЙ, УСТОЙЧИВЫЕ К ФИТОПЛАЗМЕННОЙ БОЛЕЗНИ**

Коваленко Т.В.

Приднестровский НИИ сельского хозяйства (Тирасполь),

Молдова

e-mail: pniish@yandex.ru

Эпифитотия фитоплазма люцерны в Приднестровье в 90-х годах XX века привела к снижению среднего урожая семян до 0,04-0,06 т/га (1997 и 1998 гг.), тогда, как агроклиматические условия региона способны обеспечить формирование 0,30-0,50 т/га семян этой ценной культуры без орошения. Распространение болезни в регионе подтверждено фитопатологами Национальной академии аграрных наук Украины в 1999 году. При разработке селекционной программы по созданию сортов люцерны, устойчивых к фитоплазменной болезни, учитывали, что отдельные генотипы в популяциях тетраплоидной перекрестноопыляющейся культуры имеют высокий уровень гетерозиготности. Сведения о специфической устойчивости получали с помощью природной популяции рас возбудителя, отмечая тип реакции и интенсивность поражения. Многократный индивидуальный отбор на жестком естественном фоне фитоплазмы и последующее изучение селекционных семей в течение четырех лет позволили выделить устойчивые генотипы. Использование селекционного материала, полученного на основе коллекций из ВНИИ кормов им. В.Р. Вильямса и ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова, обеспечило привлечение разных сортов, чтобы избежать накопления генов устойчивости у генетически однородного материала в пределах естественного эпидемического региона паразита. В результате многолетней работы из нескольких тысяч индивидуальных отборов изучили 208 семей, из них выделили 54 устойчивые, 10 из которых использовали для создания новых сортов, которые существенно превысили районированные по урожайности зеленой массы и семян. Средний урожай семян на жестком естественном фоне фитоплазма без химической защиты в сумме за три года испытаний у сорта Вероника составил 1,270 т/га, у стандарта – 0,359 т/га. Средний урожай семян сорта Рассвет-1 составил от 0,304 до 0,400 т/га в разные годы испытаний без орошения и химической защиты. Восприимчивые к фитоплазме сорта в аналогичных условиях обычно



формируют урожай семян 0,070-0,100 т/га, а при высокой инсектицидной нагрузке – 0,150-0,200 т/га семян. Устойчивость сортов к фитоплазмозу зависела не только от генотипа сорта, но и от экологических условий. Возделывание новых, устойчивых к фитоплазменной болезни сортов люцерны Вероника и Рассвет-1, позволяет сократить использование пестицидов при достижении высоких и стабильных по годам урожаев семян. Созданы и внедряются в производство два сорта люцерны, устойчивые к фитоплазмозу.

#### **С7-49. РЕЗУЛЬТАТЫ СЕЛЕКЦИИ ФАСОЛИ В ЮЖНОЙ ЛЕСОСТЕПИ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ**

**Казыдуб Н.Г. \***, Гурина О.Ю., Кузьмина С.П.

*ФГБОУ ВПО Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина (Омск), Россия*

\* e-mail: ng-kazydub@yandex.ru

Зернобобовые культуры, за счет питательной ценности признаны частью «здорового питания», обладают огромным биоресурсным потенциалом и занимают ведущее место в развитии пищевых технологий третьего поколения. В селекционной проработке зернобобовых культур в Сибири наибольшее внимание традиционно отводится гороху. До сего времени в регионе посевы таких культур, как чина, нут, фасоль, чечевица, бобы, практически не имеют производственного значения, носят чисто опытнический характер и возделываются в основном как садово-огородная культура. В процессе выполнения программы научных исследований в ОмГАУ на кафедре селекции, генетики и физиологии растений для условий южной лесостепи Западной Сибири впервые созданы четыре сорта фасоли овощной. После длительного перерыва возобновлена селекция и фасоли зерновой, на государственном сортоиспытании находятся три сорта Лукерья, Оливковая, Омичка. В 2012 г. сорта овощного направления Золото Сибири и Памяти Рыжковой включены в Государственный реестр селекционных достижений Российской Федерации, получены патенты. Сорт фасоли овощной *Памяти Рыжковой* создан путем индивидуального отбора в F<sub>3</sub> из гибридной популяции, полученной от скрещивания сортов Niver x Maxion faden. В предварительном сортоиспытании по пару средняя урожайность за 2009-2011 гг. составила: зеленых бобов – 7,6 т/га, семян – 2,8 т/га. Ценностью сорта является способность длительное время сохранять хозяйственную годность, бобы пригодны к консервированию и заморозке. По результатам конкурсного сортоиспытания сорт Памяти Рыжковой имел ряд преимуществ перед сортом стандартом Золушка: по урожайности семян (прибавка 1,2 т/га); по урожайности зеленых бобов (прибавка 3,0 т/га); по товарности бобов - 91,2 % (прибавка 20,1 %); по содержанию в зеленых бобах таких микроэлементов, как цинк (29,08 мг/кг), кальций (0,84%) и йод (0,7 мг/100 г); по массе 1000 семян (235 г). Особенность новых сортов овощного назначения – высокая урожайность зеленых бобов и семян; высокая товарность и пригодность для консервирования и заморозки; бобы не грубеют длительное время в технической спелости; устойчивость к антракнозу; высокое прикрепление нижнего боба. Новые сорта пригодны для механизированной уборки. Результаты научных исследований свидетельствуют о перспективности возделывания овощной и зерновой фасоли в условиях Западной Сибири, и возможности получения высокоценной продукции в нашей зоне довольно в ранние сроки.

#### **С7-52. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МНОГОПОЧАТКОВЫХ ЛИНИЙ КУКУРУЗЫ**

**Паритов А.Ю. \***, Айшаева З.М., Алоева А.Б.

*ФГБОУ ВПО Кабардино-Балкарский государственный универ-*

*ситет им. Х.М. Бербекова (Нальчик), Россия*

\*e-mail: Paritov@mail.ru

Уже более сорока лет на кафедре общей генетики, селекции и семеноводства КБГУ ведутся исследования, посвященные изучению комбинационной способности и генетического контроля количественных признаков самоопыленных линий кукурузы. Самоопыленные линии были заложены на гибридах и местных популяциях белозерной кукурузы. В настоящее время, накопленный в результате многолетней работы на кафедре, селекционный материал используется для изучения молекулярно-генетического полиморфизма методом полимеразной цепной реакции и детекции ДНК-маркеров к хозяйственно-ценным признакам. Выявляемый с помощью ПЦР с произвольными праймерами генетический полиморфизм может быть использован при исследованиях видовой идентификации, для генетического картирования и паспортизации генотипов. Также данные о локализации RAPD могут применяться для создания генетических маркеров локусов количественных признаков сельскохозяйственных культур. Проблемы исследования генома сельскохозяйственных растений одно из ведущих направлений научно-исследовательских работ, поскольку перед лицом ожидаемого громадного увеличения населения продовольствие становится важнейшим стратегическим ресурсом. Количественные признаки имеют сложную наследственную основу, контролируются большим числом генов и в значительной степени подвержены модифицирующему воздействию внешней среды. Применение молекулярных маркеров открывает широкие перспективы для изучения генетической природы количественных признаков путем маркирования локусов (Qtl's), что определяют их развитие, и на этой основе практического повышения эффективности методов селекции. Проведен RAPD анализ линий кукурузы селекции КБГУ с использованием коротких праймеров длиной 10 нуклеотидов.

#### **С7-53. СЕЛЕКЦИЯ ТЕТРАПЛОИДНОЙ КУКУРУЗЫ НА ПОВЫШЕННУЮ СЕМЕННУЮ ПЛОДОВИТОСТЬ ПОЧАТКА**

**Хатевов Э.Б. \***<sup>1</sup>, Шербак В.С. <sup>2</sup>

<sup>1</sup>*ГНУ Кабардино-Балкарский НИИСХ РАСХН (Нальчик), Россия;*

<sup>2</sup>*ГНУ Краснодарский НИИСХ им. П.П. Лукьяненко РАСХН (Краснодар), Россия*

\*e-mail: haed1967@rambler.ru

Автотетраплоидная кукуруза впервые получена в США в 1931 г. Л.Ф. Рандольфом методом температурного шока. Наличие более двух аллелей в одном локусе автотетраплоидной кукурузы значительно расширяет возможности их взаимодействия, что может привести к увеличению гетерозиса. Поэтому значение селекционного и генетического изучения тетраплоидных форм кукурузы актуально. Ранние работы многих исследователей показали перспективность селекции тетраплоидной кукурузы, но низкая семенная продуктивность первых автотетраплоидов не позволила быстро создать коммерческие сорта и гибриды. Этот факт резко снизил энтузиазм исследователей. Мнения ученых о причинах, вызывающих низкую семенную плодовитость автотетраплоидов, разнятся. Классическая концепция о причинах понижения семенной продуктивности основана на данных исследования цитологии мейоза у автополиплоидов. Анализ показал мультивалентную ассоциацию гомологичных хромосом. В результате этого в мейозе автополиплоидов, возникают гаметы с несбалансированным набором хромосом, которые и стали причиной снижения семенной продуктивности вследствие возникновения анеуплоидов. Аналогичная ситуация повторилась на экспериментальных автотетраплоидах других зерновых культур. Определение удельного веса цитогенетических причин в снижении семенной продуктивности

автополиплоидов, а также разработка эффективных методов ее повышения продолжает оставаться важной задачей генетических и селекционных исследований этой культуры. Автором разработан метод получения высокопродуктивных генотипов тетраплоидной кукурузы на основе комплексного изучения и отбора в популяции генотипов по определенным морфологическим и цитологическим критериям. На основе селекционного материала полученного в результате проведенных исследований был создан новый сорт тетраплоидной кукурузы включенный в реестр селекционных достижений РФ.

#### **C7-54. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ ВИР В СЕЛЕКЦИИ BRASSICA JUNCEA**

**Картамышева Е.В.**

ГНУ Донская опытная станция им. Л.А. Жданова ВНИИМК Россельхозакадемии (Ростов-на-Дону), Россия

e-mail: kartamisheva-elena@mail.ru

Ценнейшей кладовой растительных ресурсов земного шара для нужд человечества служит Всероссийский институт растениеводства (ВИР) им. Н.И. Вавилова. Оценка обширного коллекционного материала ВИР *Brassica juncea* Czern. (более 1000 образцов горчицы сарептской) в сочетании с использованием классических методов селекции позволяет создать уникальный селекционный материал по этой культуре. Полиморфизм вида *Brassica juncea* Czern., обнаруженный при изучении коллекции ВИР, характеризуется многообразием биотипов, входящих в состав популяции горчицы сизой. Отличия форм по габитусу, скороспелости, урожайности, масличности, жирнокислотному составу масла, позволили использовать в селекционной программе ряд ценных по хозяйственно полезным признакам генотипов горчицы сарептской. Проведение гибридизации с применением коллекционного материала различного эколого-географического происхождения дало возможность выявить наиболее высокий процент гетерозиса у гибридов, полученных при скрещивании сортов станции с образцами из Китая, Канады, Австралии. Благодаря удачно подобранному парам в комбинациях скрещиваний, получен гибридный материал, отличающийся не только высокой продуктивностью, но и улучшенным качеством масла с высоким содержанием наиболее ценных в пищевом отношении олеиновой (40-44%) и линолевой жирных кислот (36-40%). На его основе созданы сорта горчицы Лера и Люкс, принадлежащие к новому поколению сортов с пищевым качеством масла. Данные сорта выведены на Донской опытной станции им. Л.А. Жданова совместно с ВНИИМК им. В.С. Пустовойта путем индивидуального отбора из гибридных популяций. Сорта отличаются высокой продуктивностью. Потенциальная урожайность семян 2,2-2,5 т/га. Содержание масла в семенах 43-45%, эфирного масла в семенах 0,8%. Новые сорта обладают широкими адаптационными возможностями, устойчивы к бурой ржавчине, устойчивы к полеганию растений и осыпанию семян. Они внесены в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию во всех регионах возделывания культуры в Российской Федерации. Использование в селекционной работе генетической коллекции ВИР им. Н.И. Вавилова позволяет полнее использовать всё разнообразие растительных форм сельскохозяйственных культур, расширить генетическую основу современных сортов.

#### **C7-55. МАРКЕР-АССОЦИИРОВАННЫЙ ОТБОР В СЕЛЕКЦИИ КАПУСТЫ БЕЛОКОЧАННОЙ (BRASSICA OLERACEA L. VAR. CAPITATA L. F. ALBA DC.)**

**Печковская Т.В.** <sup>\*1</sup>, **Вакула С.И.** <sup>1</sup>, **Якимович А.В.** <sup>2</sup>, **Шаптуренко М.Н.** <sup>1</sup>, **Забара Ю.М.** <sup>2</sup>, **Хотылева Л.В.** <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (Минск), Республика Беларусь;

<sup>2</sup>Институт овощеводства (Минск), Республика Беларусь

\*e-mail: T.Pechkovskaya@igc.bas-net.by

Капуста белокочанная как перекрестноопыляемая культура характеризуется высоким уровнем полиморфизма. Большинство сортообразцов гетерогенны по аллельному составу ДНК-локусов и выявляют значительное фенотипическое варьирование. Для получения выровненного материала требуется проводить отбор гомогенных форм как на генетическом, так и фенотипическом уровнях. Соответствующий селекционный эффект может быть достигнут путем ДНК-верификации. Для отбора выровненного материала мы провели типирование индивидуальных растений селекционных образцов Alfredo, Rotonda, Rd4, Invento, Semko, а также стандарта Белорусская 85. В работе использовано 6 ISSR ((atg)<sub>6</sub>, (ctc)<sub>6</sub>, (gaa)<sub>6</sub>, (ac)<sub>8</sub>aa, (ac)<sub>8</sub>ta, (ac)<sub>8</sub>tc) маркеров, отобранных как информативные после предварительной оценки ДНК гетерогенности базовой коллекции, т.е. позволяющие устанавливать принадлежность генотипов к той или иной линии и оценивать типичность селекционного материала. Присутствие неспецифических ампликонов расценивали как присутствие нежелательного генетического материала, свидетельствующее о возможном переопылении. Такие растения исключались из испытаний. Результаты показали, что экспериментальные формы характеризуются высоким уровнем гетерогенности. В отдельных случаях обнаруживалось от 2 до 10 различных аллельных сочетаний на образец. Наиболее тщательно отселектированными оказались Semko (Sem3), Rd4 и Invento (Inv5), уровень их полиморфизма не превышал 8,5%. Наиболее гетерогенным оказался стандарт - Белорусская 85. Несмотря на высокую разнородность (26%), большинство полиморфных локусов этого образца являются типичными. Мы рекомендовали проведение дополнительных отборов в популяции образца Белорусская 85, которая является ценным источником уникальных сочетаний ДНК-локусов для селекции. На основе проведенных исследований отбракованы отдельные растения из популяции Semko и рекомендована дополнительная проверка генотипов, полученных от форм Alfredo (Alf3-17, Alf3-18) и Rotonda (Rot4-3, Rot4-7, Rot4-8). Все селекционные линии разделены на два полиморфных пула, каждый из которых с высокой вероятностью имеет общую генетическую основу. Первый пул образовали образцы Бел85, Rd4 и Rot4, второй – Sem3, Alf3 и Inv5. На основе полученных данных в последующий цикл селекции включены генотипы, характеризующиеся сходными ДНК-профилями, т.е. генетически выровненный материал.

#### **C7-56. СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ И ОТБОРА УСТОЙЧИВЫХ ИСХОДНЫХ РОДИТЕЛЬСКИХ ФОРМ ГИБРИДОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА К BOTRITIS CINEREAPERS**

**Аксютина Н.Б.** <sup>\*1</sup>, **Кузьмина Г.Н.** <sup>2</sup>, **Гаврилова О.А.** <sup>1</sup>

<sup>1</sup>ТОО «Опытное хозяйство масличных культур»

(Усть-Каменогорск), Казахстан;

<sup>2</sup>Восточно-Казахстанский государственный университет

(Усть-Каменогорск), Казахстан

\*e-mail: nauka\_OXMK@rambler.ru

Селекция на иммунитет – одна из наиболее важных проблем улучшения сельскохозяйственных культур. Для получения устойчивых к болезням гибридов подсолнечника необходимо вводить в селекционный процесс, устойчивые к тем или иным болезням исходные родительские формы. В этой связи нужно делать глубокий анализ на иммунитет материнских и отцовских линий вовлекаемых в гибридизацию. Поэтому главная цель

наших исследований была сосредоточена на отборе в селекционном материале устойчивых родителей. По предварительной оценке селекционного материала в естественных условиях заражения, было выявлено поражение от 2% до 70% серой и белой гнилями возбудителями которых являются *Botrytis cinerea Pers.* и *Whetzelinia sclerotiozum (d By)*. Поэтому остро встал вопрос о создании рабочей коллекции устойчивых форм. Был разработан метод заражения корзинок *Botrytis cinerea Pers.* в поле и использована наиболее агрессивная форма, выделенная из изолятов, отобранных в Восточном Казахстане. В питомниках исходного материала были отобраны растения и до цветения изолированы корзинки. В период налива семян был снят изолятор для нанесения суспензии возбудителя серой гнили выращенной на проростках подсолнечника и вновь закрыт до полного созревания. Полученные семена в лабораторных условиях были подвержены микологическому анализу. Так, в питомнике родительских форм было проанализировано 196 образцов (122 – материнские линии (♀) и 74 – отцовские линии (♂)). По результатам микологического анализа было выделено 32 образца (♀-14, ♂-18), как слабо пораженные и выносливые. Здесь развитие болезни в контроле не превышало 20%, а на зараженных семенах варьировало от 5% до 45%. Линии ВКУ 348Б и ВКУ 359Б, а так же ВКУ 154В, ВКУ 176В, ВКУ 192В, ВКУ 278В, ВКУ 287В, ВКУ 258В проявили полевую выносливость к *Botrytis cinerea Pers.* из всех изученных образцов, здесь на зараженных семенах процент поражения варьировал от 5% до 15%, а в контроле и вовсе был равен нулю. В результате проведенных исследований нами были отобраны 32 линии показавших высокую устойчивость к *Botrytis cinerea Pers.* В данных образцах будет продолжаться отбор на иммунитет к белой и серой гнилям.

#### **С7-57. СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ГЕНОВ, СУПРЕССИРУЮЩИХ ФЕНОТИП ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МУЖСКОЙ СТЕРИЛЬНОСТИ У ПОДСОЛНЕЧНИКА**

*Анисимова И.Н. \*, Гаврилова В.А., Алпатьева Н.В., Рожкова В.Т., Кузнецова Е.Б.*

ГНУ Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: irina\_anisimova@inbox.ru

Генетические системы CMS-*Rf* (ассоциированный с мутациями митохондриального генома признак цитоплазматической мужской стерильности – ядерные гены восстановления фертильности) широко используются в селекции растений для получения семян гетерозисных гибридов. В последнее время они также рассматриваются в качестве эффективных моделей для изучения генетических механизмов ядерно-цитоплазматических взаимодействий. Большинство известных генов *Rf* кодируют белки, содержащие повторяющиеся мотивы из 35 аминокислотных остатков (*pentatricopeptide repeats, PPR*) и недавно были объединены в семейство *RFL-PPR* (Fujii et al. 2011). Природа генов *Rf* подсолнечника до сих пор не известна. Для проверки гипотезы о принадлежности генов *Rf* подсолнечника к семейству *RFL-PPR* мы использовали оригинальные модельные объекты, представленные 128 линиями генетической коллекции. По данным молекулярного скрининга, линии различались типом цитоплазмона (стерильный с ЦМС РЕТ1 или фертильный), а также несли различные аллели локуса *Rf1*, контролирующего признак восстановления фертильности пыльцы форм с ЦМС РЕТ1. Из базы данных секвенированного генома подсолнечника (<http://www.cgp.edu/>) были отобраны фрагменты экспрессируемых последовательностей (EST), гомологичные генам *Rf* других растений и

сконструированы праймеры для их амплификации. Амплифицированные фрагменты были клонированы и секвенированы. Установлено, что все они содержат 2-3 PPR-мотива. У линий, различавшихся по функциональному состоянию локуса *Rf1*, пять фрагментов отличались по нуклеотидной последовательности и у разных генотипов характеризовались однонуклеотидным полиморфизмом. Три фрагмента у изученных генотипов оказались высокомологичными, что указывало на их принадлежность к одному кластеру генов. Фрагмент HL12D20 содержал вставочную последовательность, полиморфизм которой был ассоциирован с функциональным состоянием локуса *Rf1*, установленным по результатам тест-скрещиваний. На основе выявленного нуклеотидного полиморфизма разработаны CAPS-маркеры. В расщепляющихся популяциях F<sub>2</sub> от межлинейных скрещиваний изучено совместное наследование аллельных вариантов фрагмента HL12D20 и SCAR-маркеров гена *Rf1*, доступных из литературных источников. Выявлено слабое сцепление между CAPS-маркером фрагмента HL12D20 и SCAR-маркером HRG02. Данные подтверждают существующие гипотезы о локализации генов *Rf* растений в районах генома, богатых PPR-последовательностями. Работа поддержана Российским Фондом Фундаментальных Исследований (код проекта 12-04-00329\_a).

#### **С7-58. КОЛЛЕКЦИЯ ЛИНИЙ АНАЛОГОВ ПО ГЕНАМ, ОБУСЛАВЛИВАЮЩИМ КАЧЕСТВЕННЫЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ ПОДСОЛНЕЧНИКА**

*Ведмедева Е.В.*

Институт масличных культур Национальной академии аграрных наук Украины (Запорожье), Украина

\*e-mail: vedmedeva\_k@mail.ru

В институте масличных культур была создана коллекция линий аналогов по генам, контролирующим качественные морфологические признаки. Она основана на шести селекционных линиях. Путем беккроссирования были созданы линии аналогов по генам, контролирующим следующие признаки: бахрома листьев (ген *Fr*), ложкообразная форма листовой пластинки (ген *sp*), эристовидность черешков (ген *er*), светло-коричневая окраска листьев (ген *lb*), короткие трубкообразные краевые цветки (ген *hba*). На семеноводческих посевах были выделены природные мутанты одной из линий по генам, контролирующим признаки окраски краевых цветков: лимонная (ген *l*), светло-желтая (ген *ly*), оранжевая (ген *o*); и формы: длинная трубкообразная (ген *tu2*), короткая полосообразная (ген *shc*). Полученная коллекция изучалась на протяжении трех, а некоторые образцы - пяти лет. Проведена генетическая идентификация генов, контролирующих качественные морфологические признаки. Подтверждена их моногенная природа. Для выяснения стабильности, отличимости и влияния маркерных признаков на генотип в целом произведены следующие наблюдения: высота растений, диаметр корзинки, число листьев, длина и ширина листа, длина черешка, число боковых ветвей (у ветвящихся линий), урожайность, масличность, масса 1000 семян. Проведено полное описание линий по международной методике UPOV. Полученные данные свидетельствуют, что наиболее стабильным из изученных признаков, было число листьев, а неподходящими для установления однородности - параметры размеров листа. Самым оптимальным явился показатель высоты растений. Остальные признаки, описанные по методике UPOV, не имели существенных отличий у большинства линий. Для изученных генов, определяющих морфологические признаки, не было выявлено однозначного влияния какого либо из генов на основные хозяйственно-ценные характеристики:



урожайность, масличность и массу 1000 семян. Хотя в процессе проведения беккроссирования (на стадии 3-5 беккроссов) неоднократно были выделены сублинии с измененными показателями урожайности, масличности и массы 1000 семян.

#### **С7-59. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ И РЕЗУЛЬТАТЫ СЕЛЕКЦИИ ПОДСОЛНЕЧНИКА В ВОСТОЧНОМ РЕГИОНЕ КАЗАХСТАНА**

**Гаврилова О.А.**

*Опытное хозяйство масличных культур (Усть-Каменогорск), Казахстан*

e-mail: nauka\_OXMK@rambler.ru

История создания коллекции генофонда подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) в Опытном хозяйстве масличных культур начинается с 1965 года – это год создания Казахской опытной станции масличных культур, в задачи которой входило изучение различных сортообразцов подсолнечника для популяционной селекции. С 1973 года начались научно-исследовательские работы по гетерозисной селекции, с использованием генетических систем ЦМС –Rf. Методом инцухтирования создан генофонд самоопыленных линий насчитывающий 1720 образцов, из них: 180 ЦМС – аналогов созданных на цитоплазме *H. petiolaris*; 12 линий на цитоплазме *H. rigidus*. Создано 516 отцовских линий содержащих гены *Rf* - восстановления фертильности пыльцы для ЦМС –РЕТ, ведется работа по созданию восстановителей фертильности пыльцы для ЦМС –RIG. Однолетние дикорастущие формы подсолнечника, доля которых в коллекции незначительна, используются при создании исходного материала. В коллекцию подсолнечника за 2009-2012 гг. привлечено 157 образцов отечественной и зарубежной селекции путем селекционных работ и обмена коллекционными образцами между научными учреждениями. Сохранение, формирование генофонда подсолнечника, изучение биологических свойств коллекционных образцов подсолнечника для дальнейших селекционных исследований является важной задачей. Паспортизация генетических ресурсов подсолнечника проведена согласно международным дескрипторам, за основу документирования принята форма с 15 полями, с информацией об образце: дате регистрации, месте и статусе хранения, стране происхождения и доноре, биологическом статусе, типу развития, наличия гербарного материала и др. Для более эффективного использования в селекционных программах генофонда подсолнечника созданы признаковые коллекции: по раннеспелости, крупноплодности, масличности, лужистости, по высоте растений и диаметру корзинки, устойчивости к ложной мучнистой росе, заразице и другим патогенам, а также по маркерным признакам. На основе генетически разнообразной коллекции самоопыленных линий подсолнечника выведены и занесены в Государственный реестр селекционных достижений Республики Казахстан - 10 раннеспелых, высокопродуктивных гибридов (Казахстанский -1, Солнечный -20, Казахстанский -3124, Казахстанский-341, Сункар, Казахстанский-465, Восточный, Казахстанский-5, Юбилейный-40, СК-2594) и 2 сорта подсолнечника (Гульбагыс, Жайна), 4 перспективных гибрида находятся на Государственном сортоиспытании с/х культур Республики Казахстан.

#### **С7-60. ДНК-МАРКЕРЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПОЛИМОРФИЗМА ПОДСОЛНЕЧНИКА**

**Усатов А.В.**\*, **Азарин К.В.**, **Маркин Н.В.**, **Тихобаева В.Е.**

*ФГАОУ ВПО Южный федеральный университет (Ростов-на-Дону), Россия*

\*e-mail: usatova@mail.ru

Подсолнечник в Российской Федерации - наиболее рентабельная и возделываемая масличная культура. Современное производство требует оперативного создания гибридов данной сельскохозяйственной культуры с высокими продуктивными и технологическими качествами. Одним из перспективных подходов в селекции растений является молекулярно-генетическое маркирование конкретных признаков в генофонде как культурных, так и дикорастущих форм растений, изучение генетического разнообразия, определение родства на внутривидовом и внутривидовом уровнях. Точная идентификация исходного материала на всех этапах селекционного процесса актуальна в работе селекционеров. С другой стороны анализ организации и изменчивости генома высших растений – не только прикладная, но и фундаментальная задача. В связи с чем, целью исследования было определение информативных RAPD-, SSR-маркеров для оценки внутри- и межвидового полиморфизма подсолнечника. Объектами исследования служили ЦМС- и Rf-линии подсолнечника селекции ДОО ВНИИМК, а также образцы дикорастущих форм однолетних видов рода *Helianthus* L. из Мировой коллекции ВИР. Для определения полиморфизма геномной ДНК 46 линий селекции ДОО ВНИИМК и 31 образца 5 однолетних видов (*H. annuus* L., *H. praecox* Englem. & Gray, *H. debilis* Nutt., *H. petiolaris* Nutt., *H. argophyllus* T. & G.) из коллекции ВИР определены RAPD- и SSR-праймеры, с высокими значениями дискриминационного потенциала. Результаты RAPD-анализа позволили рассчитать уровень как внутри-, так и межвидового полиморфизма. В среднем межвидового полиморфизма коллекционных образцов составил 43,4 %, а внутривидовой – 11,9 %, в том числе *H. annuus* – 11,4 %, *H. argophyllus* – 6,1 %, *H. debilis* – 15,4 %, *H. petiolaris* – 16,4 % и *H. praecox* - 10,2 %. Среднее значение PIC для SSR локусов геномной ДНК селекционных линий и однолетних видов составило 0,60 и 0,74, соответственно. Таким образом, на селекционном материале подсолнечника и коллекционных образцах экспериментально определены ДНК-маркеры, позволяющие дифференцировать как внутри- и межвидовые различия внутри рода *Helianthus* L., так и линейный материал культурного подсолнечника. Исследование выполнено в рамках темы Министерства образования и науки РФ (№ 4.5642.2011).

#### **С7-61. ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ХЛОРОПЛАСТНОЙ ДНК КУЛЬТУРНОЙ И ДИКОРАСТУЩЕЙ ФОРМ ПОДСОЛНЕЧНИКА**

**Маркин Н.В.**\*<sup>1</sup>, **Логачева М.Д.**<sup>2</sup>, **Усатов А.В.**<sup>1</sup>,

**Литючий А.В.**<sup>1</sup>, **Колоколова Н.С.**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Южный федеральный университет (Ростов-на-Дону), Россия;

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (Москва), Россия

\*e-mail: nmarkin@mail.ru

Хлоропластный геном обладает гораздо меньшим уровнем изменчивости по сравнению с ядерным геномом. Наряду с этим, демонстрируется сокращение генетической изменчивости хлоропластной ДНК (хлДНК) в процессе окультуривания и дальнейшей селекции. В тоже время известно, что генетическая однородность генома хлоропластов может привести к негативным явлениям, так как определены корреляции между устойчивостью растений к различным стрессовым факторам и мутациями в хлДНК. Поэтому исследование полиморфизма хлоропластной ДНК делает более эффективным поиск различных доноров цитоплазмы, которые могут быть использованы в селекции. В связи с этим целью работы является сравнительный анализ полных последовательностей хлДНК дикорастущей и культурной форм подсолнечника (*Helianthus annuus* L.), а также определение полиморфных ДНК-мишеней для разработки новых молекулярно-генетических маркеров хлоропластного генома подсолнечника.

Материалом исследования служили культурная (линия № 3629) и дикорастущая (линия № 441245) формы *Helianthus annuus* L. из генетической коллекции подсолнечника НИИ биологии Южного федерального университета. Полногеномное секвенирование хлДНК проводили на секвенаторе HiSeq2000 (Illumina, USA) с длиной чтения 100+100. Полученные чтения картировали на референсный геном (последовательность хлДНК американской линии подсолнечника HA383, ([www.ncbi.nlm.nih.gov/pssocg/94502469](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pssocg/94502469)). Консенсусные последовательности, полученные в результате картирования исходных чтений, выравнивали с помощью программы BioEdit 7.0.9.0. В результате сравнительного анализа последовательностей трех хлоропластных геномов определены 46 полиморфных локусов, из которых 28 (60,9%) представлены SNP и 18 (39,1%) - SSR. SNP характеризуются пятью вариантами нуклеотидных замен: A/G (32,1%), A/C (17,9%), A/T (17,9%), T/C (21,4%), T/G (10,7%), а SSR – (A)<sub>10-16</sub> (22,2%), (T)<sub>9-13</sub> (33,3%), (C)<sub>6-11</sub> (27,8%), (G)<sub>7-8</sub> (16,7%). Интересно отметить, что 10 из 28 SNP локализируются в кодирующих участках генов - *rpoC2*, *rps2*, *atpA*, *psaA*, *trnF-GAA*, *rpl16*, *ycf1* (2 SNP), *ndhG*, *ndhF*, причем часть из замен являются несинонимичными, а все исследованные микросателлиты, представлены мононуклеотидными повторами и располагаются вне кодирующих областей хлДНК. Эти SNP и SSR, могут быть перспективными ДНК-мишенями для исследования изменчивости хлоропластного генома культурных и дикорастущих форм подсолнечника, а также в качестве новых информативных хлДНК-маркеров. Исследование выполнено в рамках темы Министерства образования и науки РФ (№ 4.5642.2011).

#### С7-62. НАСЛЕДИЕ Н.И. ВАВИЛОВА В СЕЛЕКЦИИ МАСЛИЧНЫХ КУЛЬТУР

*Горбаченко Ф.И.*\*,<sup>1</sup>, *Картамышева Е.В.*<sup>1</sup>, *Шурупов В.Г.*<sup>1</sup>, *Гаврилова В.А.*<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГНУ Донская опытная станция им. Л.А. Жданова ВНИИМК Россельхозакадемии (Ростов-на-Дону), Россия;

<sup>2</sup>Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (Санкт Петербург), Россия

\*e-mail: gnudos@mail.ru

Н.И. Вавилов создал теорию сбора мировых генетических ресурсов и положил начало созданию коллекции культурных растений. Продолжая его работу, коллектив Всероссийского научно-исследовательского института растениеводства имени Н.И. Вавилова собрал богатейший материал мирового разнообразия культурных растений, насчитывающий более 320 тысяч коллекционных образцов. Постоянно пополняемая коллекция является неисчерпаемым источником новых генотипов. Селекционеры Донской опытной станции им. Л.А. Жданова ВНИИМК в своей работе используют все генетическое разнообразие коллекционных образцов не только на начальном этапе работы с культурой, но и в дальнейшем, изучая коллекционные образцы новых пополнений и отслеживая реакцию различных генотипов на меняющиеся условия среды. Неопределима роль Н.И. Вавилова в создании коллекции растений, но не менее важен его вклад в теоретическое наследие, особенно в развитие селекции. Им обосновано выделение селекции в самостоятельную науку: «Селекция как наука есть учение о выведении сортов в соответствии с потребностями человека. Селекция представляет собой эволюцию, направляемую волей человека. Мы не сомневаемся в том, что развитие селекции как науки приблизит исследователя к управлению организмами, даст в руки селекционера могучее средство менять по его воле наследственную конституцию организмов». Н.И. Вавилов подчеркивал, что селекция как научная дисциплина характеризуется высокой степенью комплексности и, опираясь на данные генетики, цитологии, эмбриологии,

также использует такие дисциплины как физиологию, химию, технологию, фитопатологию, энтомологию. Используя генетическую коллекцию ВИР и опираясь на труды Н.И. Вавилова, нам удалось выявить образцы горчицы сарептской с различной степенью ксеногамии и использовать этот признак в селекции на продуктивность и качество масла. Изучение биологии цветения клещевины позволило предложить способ изменения половой направленности и способ увеличения количества женских растений у клещевины, позволившие создать высокоурожайные сорта этой культуры. Основываясь на протогении льна и горчицы, удалось разработать методику скрещивания этих растений без кастрации цветов. Руководствуясь учением об иммунитете, селекционеры Донской станции создали сорта подсолнечника, устойчивые к ложной мучнистой росе, толерантные к фомопсису и выносливые к заразику. Благодаря изучению и использованию коллекции ВИР, теоретического наследия Н.И. Вавилова, на станции создано более 80 сортов и гибридов подсолнечника, льна масличного, горчицы, клещевины, кунжута, рыжика и других масличных культур, которые внесены в Госреестр РФ и возделываются в различных регионах нашей страны и странах СНГ на площади более 1 млн. га.

#### С7-63. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ В СЕЛЕКЦИИ ЛЬНА МАСЛИЧНОГО

*Лучкина Т.Н.*

ГНУ Донская опытная станция им. Л.А. Жданова

ВНИИМК Россельхозакадемии (Ростов-на-Дону), Россия

e-mail: Luchkina.tanya@yandex.ru

Труды Н.И. Вавилова содержат фундаментальные положения, которые являются общетеоретической основой работы с исходным материалом для селекции льна масличного. Основное направление работы состоит в поиске наиболее ценного материала, сформировавшегося в различных центрах происхождения культурных растений. Важными этапами селекции льна являются оценка материала по эколого-географическому происхождению; комплексное изучение изменчивости видов по хозяйственно-биологическим признакам и свойствам; подбор пар для гибридизации с учетом эколого-географической отдаленности родительских форм, а также требования, предъявляемые к сорту льна масличного для возделывания в условиях недостаточного увлажнения Ростовской области. Было проанализировано более тысячи сортообразцов коллекции ВИР (2000-2012 гг.). На основании комплексного изучения исходного материала сформирована признаковая коллекция, обладающая ценными свойствами: скороспелые (к-1776, к-1771 М. Азия; к-6491 Казахстан; к-4395 Тува; к-6298 США; к-6058 Армения и др.); позднеспелые (к-7723, к-6381 Франция; к-6501 Кустанай; к-5909 Аргентина; к-5551 Югославия); сортообразцы с высокой массой 1000 семян (к-6778, к-6228 Марокко; к-1930 Тунис); с высокой масличностью семян (к-6515, к-933 Акмолинск; к-6772 США; к-6697 Афганистан и др.); образцы с комплексом ценных селекционных признаков (к-6689 Венгрия; к-2803 Канада; к-6228 Марокко; к-6289 Франция; к-0136509 Голландия); устойчивые к болезням (к-6103 Аргентина; к-6228 Марокко). Выделенные сортообразцы используются для проведения отборов и в качестве доноров признаков при создании исходного материала методом межсортовой гибридизации. Селекционный материал получен на базе широкого привлечения сортов и сортообразцов коллекции ВИР. В результате селекционной работы выведено 2 сорта льна масличного Радуга и Светлячок, переданные в 2010 году на Государственное сортоиспытание. Сорт Светлячок получен методом индивидуального отбора из гибридной популяции на основе коллекционного номера U-600076 и лучшего сортооб-

разца нашей селекции. Потенциальная урожайность сорта 22 ц/га. Содержание масла в семенах выше 50 %. Сорт Светлячок внесен в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию в Российской Федерации с 2013 г. Сорт льна масличного Радуга выведен методом индивидуального отбора из гибридной комбинации F3 (к-7960 X Небесный). Потенциальная урожайность сорта 25 ц/га. Содержание масла в семенах 47–50 %. Сорта льна масличного Радуга и Светлячок обладают высокой технологичностью возделывания. Растения практически не полегают и не осыпаются. Созданная Н.И. Вавиловым коллекция мировых ресурсов широко используется современниками в селекции сельскохозяйственных растений.

#### **S7-64. СОЗДАНИЕ НОВЫХ ГЕНОТИПОВ ЛЬНА (*LINUM USITATISSIMUM* L.) МЕТОДАМИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИНЖЕНЕРИИ**

**Лемеш В.А., Гузенко Е.В. \*, Железнякова Е.В.**  
ГНУ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (Минск), Республика Беларусь  
\*e-mail: E.Guzenko@igc.bas-net.by

Встраивание в геном организма-хозяина генетических конструкций имеет целью получить новый признак, недостижимый для данного организма традиционной селекцией. Нами оптимизированы условия проведения *Agrobacterium*-опосредованной трансформации гипокотильных эксплантов льна путем введения этапа прекультивирования и впервые разработаны приемы проведения прямой (биобаллистической) трансформации для льна-долгунца, что позволило создать модельные трансгенные растения, представляющие научный интерес как носители чужеродных генов, а также трансгенные растения льна с устойчивостью к гербициду глифосату. Для подтверждения трансгенного статуса проводили комплексный ПЦР-скрининг, позволяющий исключить ложноположительные результаты. При использовании любых методов трансформации *in vitro* большое значение имеют температура, состав среды для инокуляции, концентрация бактериальных клеток, использование индукторов генов вирулентности, штамм агробактерии, тип векторной конструкции и генотип растения. Все эти ограничения делают проблему регенерации стабильных фертильных трансформантов наиболее острой. Технология трансформации клеток растения *in planta* позволяет преодолеть трудности и упростить дорогостоящую, трудозатратную, требующую специального оборудования стадию регенерации и укоренения трансгенных растений. Мы использовали наиболее эффективные (до 70%) модификации метода *in planta* для создания трансгенных растений льна. Эффективность трансформации по данным комплексного ПЦР-скрининга (амплификация последовательности фрагментов ДНК почвенной бактерии, целевого гена, 35S промотора и гена *prtII*) предположительно трансгенных растений льна T0 составила 25%. Одним из нежелательных побочных эффектов трансгенеза является появление так называемых «ложных трансформантов» (в англоязычной литературе - «escapes»). Нами впервые обнаружены изменения в геноме растений «ложных трансформантов» первого семенного поколения, что свидетельствует о генетической природе изменчивости данных растений. Морфологическая оценка позволила выделить формы, достоверно превосходящие исходные сорта по признакам, ассоциированным с продуктивностью. Полученные результаты показывают перспективность использования растений «ложных трансформантов» в селекции процессе данной сельскохозяйственной культуры. Таким образом, оптимизация применяемых методов генетической трансформации льна, а

также разработка новых методов позволит включить лен в число важных и экологически безопасных объектов генетической инженерии. Кроме того, генетическая трансформация, рассматриваемая как стрессовый фактор, может способствовать расширению генетического разнообразия культуры льна.

#### **S7-65. ОСОБЕННОСТИ РЕПРОДУКЦИИ ТРАНСГЕННЫХ ЛИНИЙ ЛЬНА-ДОЛГУНЦА (*LINUM USITATISSIMUM* L.)**

**Лемеш В.А. <sup>1</sup>, Гузенко Е.В. <sup>\*,1</sup>, Железнякова Е.В. <sup>1</sup>, Саматадзе Т.Е. <sup>2</sup>, Муравенко О.В. <sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ГНУ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (Минск), Республика Беларусь;

<sup>2</sup>Институт молекулярной биологии им. Энгельгардта (Москва), Россия

\*e-mail: E.Guzenko@igc.bas-net.by

Через несколько лет после создания первых трансгенных растений стало очевидно, что перенесенные гены функционируют в новом генетическом окружении растительного генома не всегда так, как предполагалось. Изучение феномена встраивания гетерологичных генов представляется чрезвычайно актуальным. Показано, что в зависимости от хромосомной локализации встройки гетерологичного гена у трансгенных растений могут происходить наследуемые изменения различных морфо-генетических признаков, в частности, высоты растения, завязываемости семян, продолжительности периода вегетации. Лен посевной (*Linum usitatissimum* L.,  $2n=2x=30$ ) – одна из древних технических культур комплексного использования, значение которой в мире неизменно высоко. Методы генной инженерии могут быть полезны при создании генетически-модифицированных сортов льна с признаками недостижимыми при использовании традиционной селекции. Нами проведены эксперименты по биобаллистической трансформации гипокотильных эксплантов льна-долгунца сорта Василек (Беларусь). В результате были созданы первичные трансформанты, несущие генетическую конструкцию с химерным геном *gfr-tua6*. Лучшие модифицированные растения послужили основой для создания самоопыленных линий (V-2, V-3). При воспроизведении модифицированных линий V-2, V-3 в течение трех лет отмечено снижение репродуктивной функции. Количество семян в коробочке уменьшилось с 4-5 шт. до 1 шт. Изучение мейоза материнских клеток пыльцы у третьего поколения трансгенных растений линий V-2 и V-3 льна показало, что при его нормальном течении наблюдается 15 палочковидных бивалентов. Вместе с тем, у растений обеих линий обнаружены различного рода отклонения: в анафазе I (отставание хромосом, “мости” и т.д.); образование деформированных ядер в профазе 2; изменение ориентации веретен в метафазе второго деления мейоза; наличие пентад, что говорит о неравном распределении генетического материала. Известно, что такие аномалии свидетельствуют о неправильной ориентации центромер на предшествующих стадиях мейоза и являются проявлением “ошибок” процесса коордации. В результате подобных нарушений формируются гаметы с несбалансированным числом хромосом, что может приводить к резкому снижению фертильности пыльцы и обуславливать нарушение репродуктивной функции. Вероятно, что именно встройка генетической конструкции с химерным геном *gfr-tua6* влияет на процесс расхождения хромосом в мейозе, что снижает завязываемость семян при репродукции трансгенных линий.

Работа выполнена при поддержке БРФФИ (договор Б12Р-170), РФФИ 12-04-90046, 14-04-90031.



### С7-66. ГЕНЫ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ И ХОЗЯЙСТВЕННО ЦЕННЫХ ПРИЗНАКОВ, ИДЕНТИФИЦИРОВАННЫЕ В ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ ЛЬНА ВИР

Пороховинова Е.А.\*, Брач Н.Б., Павлов А.В., Кутузова С.Н.

Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова  
РАСХН (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: e.porohovinova@mail.ru

С использованием классического генетического анализа изучено наследование 32 генов морфологических признаков. Четыре из них (*s1*, *sfb1*, *pb1*, *pb3*) определяют цвет гипокотыля, ослабляют окраску лепестков и делают их деформированными. Ген *star1* в зависимости от аллельного состояния обуславливает желтую (*s1*) или зеленую (*s1-2*) окраску семян. Пять не аллельных генов (*fe*, *wf1*, *dlb1*, *dlb3*, *dlb4*) контролируют светло-голубую окраску цветка. Ген *fe* обладает плейотропным эффектом на цвет гипокотыля и пятнистость семян. Ген *pfl* обуславливает розовый венчик, оранжевые пыльники и желтый оттенок семян. Ген *RPF1* ослабляет розовую окраску лепестков. Ген *uspfl* ослабляет окраску семян до желтой только у гомозигот по аллелю *pfl-ad*. Три гена ответственны за разные оттенки фиолетового (*sfc1,2,3*) и один – за синий (*sfc5*) цвет лепестков. Ген *svf1* делает звездчатыми фиолетовые цветки *sfc2*. Два не аллельных гена *ora1* и *ora2* отвечают за оранжевые пыльники, первый также осветляет тычиночные нити и делает крапчатыми семена. Три не аллельных гена контролируют только окраску семян: *YSED1* и *used2* – желтую, *rs1* – светло желто-коричневую. К другим органоспецифическим генам относятся гены *sgh1* (зеленый гипокотыль) и *FPI* (продольная складка лепестков). Ген *CSB1* контролирует формирование ресничек на ложной перегородке коробочки. Ген *ugp1* ответственен за желто-зеленую окраску растущих растений. Гены *zeb1* и *zeb2* обуславливают фенотип «зебрина», повышенную фоточувствительность, низкорослость, мелкие деформированные цветки. Ген *dwarf1* (*dw1*) обуславливает карликовость, выраженную в укорочении междоузлий и утолщении стебля (неполное доминирование), с плейотропным эффектом на деформацию цветка (рецессивный). Этот ген у льна описан впервые. В коллекции имеется линия Agt1393 (Чехия) с идентифицированным ранее (Tejklova, 2002) геном *cs1*, обуславливающим фенотип «кудрявый» стебель. Проведены тесты на аллелизм между генами линий нашей коллекции и генами линий из других коллекций. В коллекции ВИР имеется большинство линий-дифференциаторов ржавчины Г.Флора несущие 25 аллелей, относящихся к 6 (*K*, *L*, *M*, *P*, *Q*) генам устойчивости. Установлена высокая эффективность против местных популяций ржавчины льна 15 известных в мире аллелей генов устойчивости, кроме них в коллекции идентифицировано еще 10 аллелей этих генов обеспечивающих полную устойчивость. С использованием этих аллелей создано 19 доноров обладающих комплексом желательных агрономических признаков, обеспечивающих возможность создания устойчивых сортов льна с разнообразной защитой от патогена.

### С7-67. САМООПЫЛЕНИЕ ГОМОСТИЛЬНЫХ ФОРМ ДЛИННОСТОЛБЧАТОЙ И КОРОТКОСТОЛБЧАТОЙ ГРЕЧИХИ В УСЛОВИЯХ КРАСНОЯРСКОЙ ЛЕСОСТЕПИ

Никитина В.И.

Красноярский государственный аграрный университет  
(Красноярск), Россия

e-mail: veranikitina@ Rambler.ru

Создан исходный материал для селекции гречихи, состоящий из гомостильных длинностолбчатых и короткостолбчатых форм, позволяющий получать высокопродуктивные сорта раз-

ного направления, приспособленные к условиям лесостепной и степной зон Красноярского края. В условиях Красноярской лесостепи селекцией гречихи занимался Ф.Е. Замяткин (1970, 2010). Основным направлением селекционного процесса являлось получение полиплоидной гречихи с устойчивым апомиксисом и создание гомостильных форм гречихи. Им были выделены длинностолбчатые (34) и короткостолбчатые (32) гомостильные линии гречихи, которые были переданы на кафедру ботаники и физиологии растений Красноярского ГАУ. К наступающему времени гомостильные формы гречихи прошли селекционный отбор, которые по многим признакам и, прежде всего, по урожайности превышают районированные сорта. Структуру длинностолбчатых и короткостолбчатых форм гречихи по признаку самосовместимости - самонесовместимости мы изучали после самоопыления их в условиях изоляции в 2011-2012гг. в учхозе «Миндерлинское» (п. Борск). Опыты были заложены на делянках площадью 2,5 м<sup>2</sup> в трехкратной повторности. В исследование были включены 13 форм гомостильной длинностолбчатой и 13 - короткостолбчатой гречихи. Большая часть самосовместимых форм наблюдалась среди длинностолбчатых образцов. Число зерен на одном растении при самоопылении у длинностолбчатых форм варьировало от 3 до 132 штук. Процент завязываемости семян у длинностолбчатых форм гречихи от растений с естественным опылением составил от 4,2% до 100,0%. Линии разделились на самонесовместимые, частично самонесовместимые и самосовместимые. Особый интерес представляют самосовместимые формы: 2, 3, 4, 27, опыление которых в меньшей степени зависит от ветра, насекомых, отлетающих более высокой устойчивостью к инбредной депрессии, выровненные по морфо-биологическим признакам и свойствам. При самоопылении короткостолбчатых форм гречихи была получена низкая завязываемость семян на одно растение. Некоторые линии (3, 11, 14) не имели ни одного зерна на растении при самоопылении. Другие линии показали низкое число зерен на одно растение: от 1 до 17 штук. В процентах по отношению к естественному типу опыления озерненность одного растения составила от 0 до 11,4%. Масса зерна с одного растения у большинства самоопыленных длинностолбчатых линий достоверно не отличалась от массы зерна у растений с естественным опылением. Она варьировала по отношению к стандартным растениям от 94,2 до 100,3 %. Выделились по массе зерна с растения самоопыленные длинностолбчатые линии: 5, 3, 2, 27, 4, 1. Таким образом, результаты наших исследований свидетельствуют о том, что линии короткостолбчатой и длинностолбчатой форм гречихи имеют разную степень самонесовместимости. Получены продуктивные самоопыленные линии длинностолбчатых форм гречихи, которые могут быть рекомендованы для сортоиспытания и создания гетерозисных гибридов.

### С7-68. РОЛЬ ДНК-ДИВЕРГЕНЦИИ В РЕАЛИЗАЦИИ ПРОДУКТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА F<sub>1</sub> ПЕРЦА СЛАДКОГО (*CAPSICUM ANNUUM* L.)

Шаптуренко М.Н.\*<sup>1</sup>, Тарутина Л.А.<sup>1</sup>, Мишин Л.А.<sup>2</sup>, Кильчевский А.В.<sup>1</sup>, Хотылева Л.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт генетики и цитологии НАН Беларуси (Минск), Республика Беларусь;

<sup>2</sup>Институт овощеводства (Минск), Республика Беларусь

\*e-mail: Shapturenko@igc.bas-net.by

Изучена эффективность предсказания урожайного потенциала гибридов F<sub>1</sub> перца сладкого (*Capsicum annuum* L.) на основе оценки генетической дивергенции (GD) родительских форм посредством ISSR, RAPD и биометрических подходов. При анализе ДНК-полиморфизма, молекулярные подходы показа-

ли сходную эффективность, их соотносимость достигала 55% ( $R^2=0.55^*$ ) подтверждая частичное перекрытие полученной информации. ISSR GD достоверно ( $r=0.56^*$ ) коррелировали с евклидовыми дистанциями (ED, рассчитаны на основе биометрического подхода), но никаких значимых связей между данными RAPD GD и ED обнаружено не было. В итоге генетической дифференциации генотипов мы отобрали 10 линий из разных полиморфных групп с комплексом хозяйственно-ценных признаков, которые были включены в гибридизацию по двум схемам: I - циклическое скрещивание; II – топкросс 1Ч9. В большинстве комбинаций  $F_1$  достоверно превосходили родителей по основным хозяйственно-ценным признакам. Средние значения гетерозиса гибридов циклической схемы значимо превосходили соответствующие показатели  $F_1$  схемы II. Анализ сопряженности дивергенции родительских форм с компонентами урожая  $F_1$  показал, что продуктивный потенциал гибридов схемы I на 86% обусловлен ISSR и на 69% - RAPD дивергенцией, тогда как продуктивность  $F_1$  схемы II не связана с величиной генетических дистанций. Очевидно, воспроизведенный в схеме II дивергентный ряд характеризуется ограниченным числом сочетаний полиморфных (потенциальных гетеротических) локусов относительно тестера, который *per se* обладает устойчивым комплексом генетических детерминант, определяющих его высокий потенциал урожайности. Напротив, для  $F_1$  циклического скрещивания (схема I), которые представляют сравнительно большее разнообразие вариантов сочетаний полиморфных локусов, обнаружены более тесные положительные связи показателей GD с гетерозисом. Прогностический потенциал ED оказался низким – достоверные корреляции обнаружены лишь для признака «длина плода» и в наибольшей степени соотносятся с вариацией  $F_1$  схемы I. Тем не менее, средний уровень выражения каждого из компонентов продуктивности обоих родителей высокозначимо коррелирует с соответствующими показателями  $F_1$  и тесно ассоциирован с обеими мерами ДНК-дивергенции. Поскольку обе меры ДНК-дивергенции обнаружили тесную связь со средней родителей, а также с продуктивностью  $F_1$ , можно предположить, что часть полиморфных ДНК-локусов компонентов гибридизации схемы I относится к гетеротическим локусам и могут рассматриваться как потенциальные маркеры для отбора исходного материала перца сладкого при его селекции на гетерозис.

#### **С7-69. ХАРАКТЕРИСТИКА СОСТАВА СТЕРИНОВ В СОРТАХ КУЛЬТУРНОГО КАРТОФЕЛЯ**

**Андреева Е.А.** <sup>\*1,2</sup>, **Сухоруков В.Н.**<sup>1</sup>, **Зыкин П.А.**<sup>1</sup>, **Лутова Л.А.**<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и биотехнологии (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский филиал Института общей генетики им. Н.И. Вавилова (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: l\_andreeva@yahoo.com

Стерины – вещества, существенные для жизнедеятельности эукариотических организмов. В мембранах клеток они обеспечивают текучесть и проницаемость; являются предшественниками синтеза стероидных гормонов; участвуют в процессах развития организма как сигнальные молекулы. У растений, в частности, картофеля, стерины (фитостерины) могут рассматриваться как важный компонент системы устойчивости к заболеваниям, поскольку являются предшественниками синтеза стероидных гликоалкалоидов; необходимым компонентом для жизнедеятельности организмов, неспособных к синтезу стероидов (например, насекомых и возбудителя фитофтороза); как компонент цитоплазматической мембраны могут влиять на эффективность проникновения патогена внутрь клетки. Картофель (*Solanum tuberosum*) является самой важной не зерновой

продовольственной культурой в мире и второй по значимости сельскохозяйственной культурой в нашей стране. Селекция картофеля ведется не менее чем по 50 признакам для создания новых сортов, обладающих ценными свойствами, в частности, устойчивости к заболеваниям. Поскольку стерины участвуют в процессах взаимодействия растений с патогенными организмами, то состав стероидов может рассматриваться как важная характеристика растения. Состав стероидов определяется работой большого количества ферментов многоступенчатого пути биосинтеза, может быть оценен по количеству ферментов, синтезирующихся в растении. На уровне мРНК оценку можно проводить с помощью ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Нами разработаны системы для оценки экспрессии генов синтеза стероидов методом ПЦР-РВ, модификация TaqMan. Подобраны праймеры и флуоресцентно-меченные зонды, а также, условия амплификации, для оценки количества кДНК генов синтеза стероидов стеролметилтрансферазы 1 и 2 (гены (SMT1, SMT2), стеролизомеразы (SI), десмостеролредуктазы (DWF1)). Нами проводится выявление корреляции между степенью устойчивости/восприимчивости к фитофторозу и составом основных стероидов (ситостерина, кампестерина, стигмастерина) у сортов картофеля (Чародей, Рождественский, Тимо, Рябинушка, Весна белая, Жемчужинка и др.), используемых для выращивания на территории России. Работа выполнена с использованием оборудования ресурсного центра СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий».

#### **С7-70. МОЛЕКУЛЯРНЫЙ СКРИНИНГ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ КАРТОФЕЛЯ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ИСТОЧНИКОВ ФЕРТИЛЬНЫХ И СТЕРИЛЬНЫХ ТИПОВ ЦИТОПЛАЗМ**

**Крылова Е.А.** <sup>\*</sup>, **Шувалова А.Р.**, **Антонова О.О.**,  
**Овчинникова А.Б.**, **Гавриленко Т.А.**

Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: katrin@newmail.ru

Известно около 200 диких видов картофеля, являющихся источниками устойчивости к экстремальным абиотическим и биотическим факторам. В селекционные программы из-за барьеров нескрещиваемости вовлечено менее 10% этих видов (Будин, Гавриленко, 1994). Поэтому для картофеля особенно актуальны исследования, направленные на расширение генетического разнообразия селекционных сортов. Гибридная стерильность у картофеля может быть обусловлена доминантными аллелями 7 ядерных генов, цитоплазматическими факторами, а также взаимодействием между ядром и цитоплазмой. Определенные типы цитоплазмы (Т, D, W) могут вызывать ингибирование роста пыльцевых трубок; нарушения в развитии эндосперма, зародыша и семян; аномалии мужского гаметофита и спорофита гибридов. При этом около 70% современных селекционных сортов имеют цитоплазму Т-типа и еще примерно 25% сортов - D и W типов (Prowan et al. 1999; Гавриленко и др. 2007; Hosaka, Sanetomo, 2012). Фертильный R-тип цитоплазмы у сортов встречается крайне редко (Hosaka, Sanetomo, 2012), несмотря на то, что межвидовые скрещивания с участием его носителей характеризуются высокой результативностью (Mori et al. 2012). Целью нашей работы являлся поиск новых источников разных типов цитоплазм среди диких видов Южной Америки - представителей серий *Acaulia*, *Circaefolia*, *Conicibaccata*, *Lignicaulia*, *Maglia*, *Megistacroloba*, *Piurana*, *Tuberosa*, *Yungasensa*. Молекулярный скрининг осуществлялся при помощи набора ДНК маркеров, разработанных Hosaka, Sanetomo (2012) для идентификации основных

типов цитоплазм картофеля. Условия ПЦР соответствовали рекомендованным разработчиками праймеров. Среди исследованных 293 образцов 28 диких видов стерильный Т-тип цитоплазмы был выявлен только у *S. berthaultii* s.l. (15 образцов из 87 изученных). В той же выборке фертильный Р-тип обнаружен у 5 образцов представителей трех видов - *S. candolleana* (1 из 19 образцов), *S. brevicaula* (1 из 24) и *S. berthaultii* (3 из 87 образцов). Таким образом, источники Т- и Р-типов цитоплазмы выявлены только среди представителей серий *Tuberosa* и *Yungasensa*. Источники А- и М-типов цитоплазм найдены среди видов серий *Acaulia*, *Megistacroloba*, *Tuberosa*. Ни один из типов цитоплазм не является видоспецифичным. У подавляющего числа видов выявлено несколько типов цитоплазм, а также ряд аллельных вариантов изученных локусов оргanelльных ДНК. Полученные данные могут повысить эффективность исследований по межвидовой гибридизации, предоставив исследователям возможность заранее подбирать пары с идентифицированными типами цитоплазм.

Исследования поддержаны грантом РФФИ №14-04-32300 мол-а.

#### С7-71. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕАКЦИИ СВЕРХЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ В СЕЛЕКЦИИ КАРТОФЕЛЯ НА УСТОЙЧИВОСТЬ К КОЛОРАДСКОМУ ЖУКУ

Марданишин И.С.

ГНУ Башкирский НИИСХ РАСХН (Уфа), Россия

e-mail: ildar.mardanshin1966@yandex.ru

Устойчивость к членистоногим базируется на разнообразных генетически детерминированных свойствах растений, складывающихся в единую сложную иммунологическую систему защиты на разных уровнях организма, в связи с этим выведение сортов картофеля, малоповреждаемых колорадским жуком является сложной актуальной задачей, требующей новых подходов. Исторически сложилось, что интродукция культуры картофеля в Евразии произошла на 4 столетия раньше, проникновения на эту территорию колорадского жука. Этого периода раздельной эволюции растения и вредителя оказалось достаточно, чтобы у культурного картофеля перестала эффективно функционировать единая иммунологическая система, и он лишился устойчивости к данному листоеду. Выведенный в 2007 году новый сорт картофеля Башкирский имеет устойчивость к вредителю, которая определяется в первую очередь реакцией сверхчувствительности на компоненты клеточной стенки кладки яиц колорадского жука, которая приводит к кратному увеличению эмбриональной и постэмбриональной смертности личинок 1-2 возраста. Нами проанализирована частота встречаемости в коллекции коммерческих сортов и в гибридном селекционном материале данного признака в условиях лесостепи Южного Урала. Установлено, что признак присутствует в 5-28% гибридах в зависимости от комбинаций скрещивания и в 12 из 78 обследованных сортах. Однако устойчивость к колорадскому жуку сортов и гибридов картофеля, имеющих этот признак, часто была не высокая. Дальнейшие наблюдения показали, что защитный эффект определялся скоростью возникновения некрозов после появления кладок вредителя на листьях: чем быстрее развивается некроз, тем эффективнее его последствия. По всей видимости, признак образования некрозов на листовых пластинках входит в состав большого генного комплекса устойчивости и наследуется сцеплено с ним. Рассматривается возможность использования данного признака для отбора устойчивых к повреждению колорадским жуком гибридов картофеля.

#### С7-72. МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГЕНОМОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ *Саматадзе Т.Е.* <sup>\*1,2</sup>, *Амосова А.В.* <sup>1</sup>, *Суслина С.Н.* <sup>2</sup>, *Быков В.А.* <sup>3</sup>, *Зеленин А.В.* <sup>1</sup>, *Муравенко О.В.* <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>Российский университет дружбы народов (Москва), Россия;

<sup>3</sup>Всероссийский институт лекарственных растений (Москва), Россия

\*e-mail: tsamatadze@gmail.com

С помощью С-бэндинга, DAPI-бэндинга, флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), геномной гибридизации (GISH) и анализа мейоза проведено сравнительное цитогенетическое изучение геномов лекарственных растений: маклеи: *M. cordata* (Willd.) R. Br., *M. microcarpa* (Maxim.) Fedde, *M. kewensis* Turritt., ромашки: *M. chamomilla* L. (сорт Подмосковная, Азулена, Сибирская бизаболольная), *M. inodora* L. и *M. discoidea* L. В кариотипах маклеи С-бэнды были высокополиморфными у всех трех видов. FISH-метод выявил сходное расположение сайтов 5S рДНК у всех трех видов. Сайт 5S рДНК локализован в середине длинного плеча хромосомы 4. Крупного размера сайт 26S локализован в области вторичной перетяжки хромосомы 1, среднего размера сайт 26S локализован на 6-спутничной хромосоме в кариотипах *M. microcarpa* и *M. kewensis*. Установлено высокое превышение содержания С-ГХ в профазных ядрах у донецкой формы маклеи по сравнению с московской формой. С помощью GISH метода исследовали геном *M. kewensis*, который, позволил получить воспроизводимое разделение геномов предковых видов *M. microcarpa* и *M. cordata*. Анализ мейотических хромосом свидетельствует о генетической стабильности геномов маклеи. Выявленные в кариотипах *M. chamomilla*, *M. inodora* и *M. discoidea* рисунки DAPI-бэндинга были аналогичны рисункам С-бэндинга хромосом этих видов ромашек. Сравнительный анализ показал, что у *M. chamomilla* DAPI-бэнды мелких и средних размеров локализируются в центромерных и интеркалярных районах хромосом. У *M. inodora* и *M. discoidea* крупные DAPI-бэнды выявлены в прицентромерных и в теломерных районах хромосом. FISH-метод выявил в геноме *M. chamomilla* сходное расположение интенсивных сигналов 26S рДНК в районах вторичных перетяжек (8 и 17), колокализованных с 5S рДНК. Был обнаружен отдельный сайт 5S рДНК в субтеломерной части короткого плеча субметацентрической хромосомы 7. У *M. inodora* и *M. discoidea* сайты 26S и 5S рДНК были колокализованы в области вторичной перетяжки двух спутничных хромосом в геномах у *M. inodora* и одной спутничной хромосомы у *M. discoidea*. Выявлено, что у тетраплоидных форм ромашки мейоз происходит в основном по «диплоидному» типу.

Работа поддержана грантами № 14-08-01167, Программой фундаментальных исследований РАН «Динамика генофондов растений, животных и человека».

#### С7-73. STUDIES ON SEED LONGEVITY OF *NICOTIANA* CONSERVED IN *EX SITU* GENE BANKS

*Агачка М.* <sup>1</sup>, *Дефта А.* <sup>1</sup>, *Ласковска Д.* <sup>1</sup>, *Доросзевска Т.* <sup>1</sup>, *Бөрнер М.* <sup>2</sup>, *Хай Ф.Р.* <sup>3</sup>, *Бөрнер А.* <sup>\*2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Soil Science and Plant Cultivation, State Research Institute (Pulawy), Poland;

<sup>2</sup>Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (Gatersleben), Germany;

<sup>3</sup>International Rice Research Institute (Manila), Philippines

\*e-mail: boerner@ipk-gatersleben.de

With the establishment of the first *ex situ* genebanks in the early 20<sup>th</sup> century, the longevity of crop seeds became a significant issue. Most



species of the temperate climate zone have orthodox seeds, i.e. seeds can survive for many years (decades) when stored under cold and dry conditions. To gather information about seed longevity within the genus *Nicotiana*, the viability of accessions stored at 20°C, 0°C and -15°C/-18°C for up to 12, 33, and 38 years, respectively, at seed banks in Poland (IUNG, Puławy; IHAR, Radzikow) and Germany (IPK, Gatersleben) was investigated. Seeds were germinated using a Jacobsen apparatus. The numbers of seedlings exhibiting a normal appearance were scored. Logistic regression analysis was used to model the proportion of seed lots (accessions) with germination > 75% (regeneration threshold). Considering this threshold, seeds of tobacco can be successfully maintained under controlled ambient conditions (20°C; paper bags) for up to ten years. At a storage temperature of 0°C (glass jars) this period is extended to about 30 years whereas at a temperature of -15°C/-18°C (glass jars) about 60% of the accessions show germination percentages higher than 75%. No significant effect of seed size on seed viability was observed.

#### **C7-74. ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ DCL2 NICOTIANA TABACUM С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ ВИРУС-ИНДУЦИРОВАННОЙ И АНТИСМЫСЛОВОЙ СУПРЕССИИ СООТВЕТСТВУЮЩЕГО ГЕНА**

**Жирнов И.В.**, <sup>\*1,2</sup>, **Трифонов Е.А.**, <sup>1</sup>, **Романова А.В.**, <sup>1</sup>, **Кочетов А.В.**, <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет (Новосибирск), Россия

\*e-mail: zh\_ik@list.ru

Естественной молекулярной составляющей устойчивости, ответственной за селективное распознавание протяженных дцРНК (в частности, вирусного и/или виroidного происхождения) и их последующую деградацию, у высших растений является система РНК-интерференции (RNA interference, RNAi). Геномы большинства фитопатогенных вирусов представлены оцРНК, однако в ходе жизненного цикла этих патогенов в составе репликативных интермедиатов происходит формирование двуцепочечной РНК. Помимо этого, образование протяженных дцРНК также может быть обусловлено транскрипцией экспрессируемой трансгеном оцРНК вирусной или растительной РНК-зависимой РНК-полимеразой. Ферментами, связанными с био-генезом малых РНК в процессе RNAi, являются DCL-рибонуклеазы (Dicer-like dsRNAses, DCLs), характерные для высших растений и представляющие собой гомологи белка Dicer млекопитающих. Гены, кодирующие DCLs, представлены семейством с различным числом генов (от 4 и более) среди разных видов. К настоящему времени охарактеризованы функции всех четырех DCLs *Arabidopsis thaliana*, из которых в процессе индуцируемого вирусами РНК-сайленсинга задействован DCL2. Гомолог рибонуклеазы DCL2 *A. thaliana* был недавно идентифицирован у *Nicotiana tabacum*, однако пока его функции точно не установлены. Наиболее часто применяемым методом изучения функций генов является антисмысловая супрессия их активности. Данный метод, однако, обладает очевидными недостатками: трудоемкостью получения трансгенных растений. Указанных недостатков лишен метод вирус-индуцированного подавления генов (virus-induced gene silencing, VIGS), в основе которого лежит применение рекомбинантного вирусного вектора, несущего последовательность гена хозяина. Транскрипты эндогенного гена, гомологичные вставкам вирусного вектора, подвергаются деградации в ходе посттранскрипционного подавления генов. VIGS позволяет обойтись без трансформации растений, и, следовательно, сокращает время получения

результатов. В рамках изучения роли рибонуклеазы DCL2 *N. tabacum* с использованием Gateway-технологии клонирования нами была создана генетическая конструкция, содержащая двуцепочечный РНК-супрессор гена, кодирующего DCL2-рибонуклеазу *N. tabacum*. При экспрессии конструкции, содержащей фрагмент кДНК РНКазы DCL2 в виде инвертированного повтора, синтезированная РНК будет самокомплементарна и сможет образовывать протяженный двуцепочечный участок. Согласно литературным данным, использование двуцепочечного супрессора для подавления активности генов. На основе TRV-векторной системы нами также была создана конструкция для супрессии гена DCL2 *N. tabacum* методом VIGS. Работа поддержана грантом РФФИ №12-04-01478-а.

#### **C7-75. БЕЛКИ РАСТЕНИЙ, СВЯЗАННЫЕ С ПАТОГЕНЕЗОМ, И МОДЕЛИРОВАНИЕ ИХ ФУНКЦИЙ В ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЯХ** **Трифонов Е.А.**, <sup>\*1</sup>, **Романова А.В.**, <sup>1</sup>, **Филипенко Е.А.**, <sup>1</sup>, **Сапоцкий М.В.**, <sup>2</sup> **Малиновский В.И.**, <sup>2</sup> **Кочетов А.В.**, <sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия;

<sup>2</sup>Биолого-почвенный институт ДВО РАН (Владивосток), Россия

\*e-mail: trifonova.k@rambler.ru

Инфицирование патогенами и поранение приводит у растений к индукции систем неспецифической устойчивости и, как следствие, активному биосинтезу белков, связанных с патогенезом, PR-белков. Было показано, что PR-10-белки имеют рибонуклеазную активность и локализованы внутриклеточно, а ранее считавшиеся хитиназами PR-4-белки на самом деле являются нуклеазами, имеют как ДНКазную, так и РНКазную активность и локализованы в межклеточном пространстве. Нами создан набор генетических конструкций, моделирующих функции PR-4 и PR-10 белков. Неспецифическая секреторная эндонуклеаза бактерии *Serratia marcescens* является полным функциональным аналогом PR-4, а рибонуклеаза III внутриклеточной локализации и безлидерный вариант секреторной эндонуклеазы *S. marcescens* были использованы для моделирования функций PR-10 белков. Для создания этих конструкций мы воспользовались Gateway технологией клонирования (Invitrogen), модифицированные и нативные варианты генов эндонуклеаз *S. marcescens* были встроены в векторы pEarleyGate 101 и pMDC110. Мы получили трансгенные растения, экспрессирующие различные модификации генов эндонуклеаз бактерии *S. marcescens* и отобрали линии с высоким уровнем экспрессии целевых генов. Для растений, экспрессирующих нативные варианты генов с сохраненной гидролитической активностью, мы отобрали линии с повышенной относительно нетрансгенного контроля рибонуклеазной активностью. Нами проведен анализ трансгенных растений, экспрессирующих различные варианты генов нуклеаз *S. marcescens* на устойчивость к ВТМ. Показано пониженное содержание антигена ВТМ в растениях линий, экспрессирующих как нативный, так и мутантный варианты гена секреторной нуклеазы, по сравнению с нетрансгенным контролем. В случае мутантного варианта гена, снижение содержания антигена ВТМ наблюдалось также при внутриклеточной локализации трансгенного продукта. Данный результат подтверждает предположение о необходимости РНК-связывающей активности для повышения устойчивости растений к фитопатогенным вирусам и избыточности гидролитической активности в некоторых случаях, поскольку многие PR-4-белки действительно лишены гидролитической активности. Работа поддержана грантом РФФИ №12-04-01478-а.

**\*С7-76. МЕЖВИДОВАЯ ГИБРИДИЗАЦИЯ  
В РОДЕ *Nicotiana***

*Ларькина Н.И.*

*ГНУ Всероссийский НИИ табака, махорки и табачных  
изделий Россельхозакадемии (Краснодар), Россия*  
e-mail: vniitti1@mail.kuban.ru

Межвидовая гибридизация занимает значительное место в селекции табака и позволяет передавать полезные признаки, особенно устойчивость к болезням этим методом. При скрещивании культурного табака с устойчивыми к болезням дикими видами секций Суавеолентес и Томентозае рода *Nicotiana* обнаружены несовместимости в получении межвидовых гибридов. Трудности гибридизации, проявляющиеся в нескрещиваемости видов, непрорастании гибридных семян и гибели гибридов, преодолели методами культуры *in vitro* (оплодотворение семязачек пыльцой в условиях *in vitro*, получении из единичных семян каллусообразования, органогенеза и укоренения растений в пробирках). На основе этих методов были получены новые стерильные межвидовые гибриды (амфигаплоиды). Из стерильных амфигаплоидов созданы фертильные полиплоиды в культуре *in vitro* и путем колхицирования точек роста у гибридов. Применение всех способов в комплексе обеспечивало успех проведенных скрещиваний и позволило выделить перспективные фертильные межвидовые гибриды (амфидиплоиды). Но наличие у амфидиплоидов двух геномов дикого вида при двух геномах табака ухудшило качество табачного сырья, поэтому эти гибриды не могли непосредственно использоваться в производстве. Амфидиплоиды служили прекрасным исходным селекционным материалом для передачи полезных признаков дикого вида в геном культурного табака. Дальнейшее скрещивание амфидиплоидов с сортами табака было целесообразно для ликвидации вредных признаков дикого вида в новых формах исходного материала и для более успешной передачи хозяйственно-ценных признаков дикого вида в геном табака. Основным достоинством амфидиплоидов была их устойчивость к болезням, так как гибриды содержали полный хромосомный набор устойчивых диких видов. Беккроссирование амфидиплоидов сортами табака показало, что очень трудно сохранить высокую устойчивость у последующего поколения. В потомстве образовывались растения устойчивые, слабовосприимчивые и восприимчивые к болезням, что было связано с элиминацией хромосом диких видов в геноме табака. Причиной трудности выделения иммунных к болезням форм в потомстве гибридов (сесквидиплоидов) от скрещивания амфидиплоидов с табаком явилась филогенетическая отдаленность скрещиваемых видов, их хромосомы полностью не ко- ньюгировали. В процессе многократных скрещиваний и отборов выделены новые линии табака с хромосомным составом  $2n = 48$ , устойчивые к тем или иным основным заболеваниям. У этих линий произошел обмен участками хромосом разных видов путем кроссинговера или передачи транслокацией фрагментов с генами устойчивости от диких видов в хромосомы табака. Отборами созданы перспективные линии гибридов с ценными хозяйственными признаками для использования в качестве исходного материала при создании сортов табака.

**\*С7-77. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ  
ОСОБЕННОСТЕЙ СОРТОВ ТАБАКА В СЕЛЕКЦИИ  
НА СКОРОСПЕЛОСТЬ**

*Хомутова С.А.*

*ГНУ Всероссийский НИИ табака, махорки и табачных  
изделий Россельхозакадемии (Краснодар), Россия*  
e-mail: vniitti1@mail.kuban.ru

В табаководстве при создании новых сортов широко и успешно используется межсортовая гибридизация. Гибридное потом-

ство отличается сложной и обогащенной наследственностью, благодаря объединению наследственных признаков родительских форм. Селекционные работы на современном этапе направлены на создание новых сортов, сочетающих в своем генотипе высокую продуктивность, качество сырья при минимальных затратах материальных средств и труда при возделывании, уборке, послеуборочной обработке. Основной задачей селекционеров остается создание сортов, способных давать стабильное качество и количество урожая в условиях лимитирующих факторов окружающей среды Российской Федерации. В качестве сортов-доноров скороспелости используются сорта генофонда мировой коллекции с коротким вегетационным периодом, являющиеся неперспективными для использования в производстве из-за низкой урожайности (14-17 ц/га) и неустойчивости к основным болезням табака. В гибридизацию со скороспелыми низкоурожайными сортами включаются сорта среднеспелого типа развития, имеющие оптимальную урожайность (25-30ц/га), устойчивость к основным болезням табака (рассадные гнили, вирус табачной мозаики, ложная мучнистая роса) В целях повышения эффективности гибридизации, правильного подбора пар в процессе создания форм скороспелого типа развития был изучен характер наследования длины вегетационного периода (длина периода от посадки до созревания листьев первого яруса) у гибридов первого поколения при скрещивании скороспелых сортов табака со среднеспелыми и позднеспелыми. Установлено, что длина периода от посадки до созревания листьев первого яруса гибридами первого поколения наследуется по типу неполного доминирования. Оценка сортов мировой коллекции по скороспелости и основным хозяйственно-ценным признакам и свойствам, изучение характера наследования периода от посадки до созревания листьев первого яруса позволяет правильно подбирать пары для скрещивания и успешно проводить гибридизацию. В результате многолетних исследований получен обширный селекционный материал скороспелого типа развития и выведены скороспелые сорта Трапезонд Кубанец и Трапезонд 92. Таким образом, исследования, проведенные в этом направлении, показывают, что при создании исходного материала табака скороспелого типа развития с комплексом хозяйственно-ценных признаков и свойств эффективным методом является гибридизация скороспелых форм с высокопродуктивными сортами среднеспелого типа развития.

**\*С7-78. ВНУТРИВИДОВАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ТАБАКА  
В ПЕРВИЧНЫХ И ВТОРИЧНЫХ ЦЕНТРАХ КУЛЬТУРЫ  
*Иваницкий К.И.***

*ГНУ Всероссийский НИИ табака, махорки и табачных  
изделий Россельхозакадемии (Краснодар), Россия*  
e-mail: vniitti1@mail.kuban.ru

Важными источниками генетической адаптации в селекции табака являются экотипы, получившие это свойство в процессе длительной эволюции в первичных и вторичных центрах культуры. Многочисленные данные указывают на то, что табак культивировался на Американском континенте в течение длительного времени и его ареал включал современные территории в Центральной и Южной Америке. Табак возделывался индейскими племенами и высокоразвитыми цивилизациями ацтеками, инками, чибча, примерно за три тысячи лет до открытия европейцами Америки. В процессе эволюции на протяжении многих тысячелетий формировался генофонд табака. Затем, после 300-летнего культивирования во вторичных центрах (Америка, Европа, Азия, Африка), образовались вторично адаптированные формы табака. Это дает основание утверждать, что основные экотипы табака сложились в первичных центрах культуры за период 1-2 тыс. лет и не смогли существенно измениться за ко-

роткий период культуры во вторичных центрах. На имеющемся генофонде мировой коллекции табака ГНУ ВНИИТТИ методами математической таксономии оценено 22 сортогруппы табака по 24 морфобиологическим признакам и установлены крупные таксономические группы-макрогруппы (микрофила, мезофила, макрофила). Макрогруппы отличаются по степени адаптации к условиям произрастания, главным признаком является вегетационный период и связанная с этим общая продуктивность. На основе изучения литературных данных проанализированы этапы, условия и выделены зоны формирования макрогрупп (эндемов) табака, построена гипотетическая схема филогенеза табака. За исторически короткий срок, исчисляемый пятью столетиями с момента открытия, и немногим более чем 400 лет, с тех пор как он был введен в культуру, табак распространился по всему земному шару. Вторичный этап формообразовательного процесса включает три качественно отличных периода: 1. Потребительского табаководства всех стран, где табак возделывался; 2. Промышленного табаководства; 3. Период научной селекции. Характерной особенностью вторичного формообразовательного процесса табака является агроэкологическая направленность эволюционного процесса. Требования табачной отрасли к сырью явились основным вектором отбора в механизме внутривидовой эволюции, приводящим к формированию в строго определенных почвенно-климатических условиях сортогрупп, дающих необходимый сырьевой продукт. В процессе направленного отбора в разных природных и хозяйственных условиях формообразовательный процесс табака идет по пути дифференциации вида на систему генетически соподчиненных хозяйственно-ценных сортогрупп.

#### **С7-79. АНАЛИЗ ФЕРТИЛЬНОСТИ ПЫЛЬЦЫ НОВОЙ ЛИНИИ-481 ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ ХЛОПЧАТНИКА**

***Бобохужаев Ш.У. \*, Санамьян М.Ф.***

*Национальный университет Узбекистана им. М. Улугбека (Ташкент), Россия*

\*e-mail: bobohujayev@mail.ru

В Национальном университете Узбекистана им. Мирзо Улугбека создана уникальная генетическая коллекция хлопчатника *G. hirsutum* L. Линия Л-481 была выделена из коллекционного образца Института генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз путем самоопыления и отбора. Цитогенетический анализ проводился в двух семьях (192<sub>n</sub> и 193<sub>n</sub>), полученных путем самоопыления линии Л-481 в полевых условиях. Для этого проводилась фиксация в спирт-уксусной смеси 3-5 мм бутонов хлопчатника с последующим анализом мейоза на стадии метафаза-1. Также проводился анализ фертильности пыльцы после окраски ацетокармином. Анализ фертильности пыльцы, проведенный у 24 растений двух семей, обнаружил некоторые отличия между ними. Так, в первой изученной семье – 192<sub>n</sub> двенадцать растений линии Л-481 характеризовались небольшим варьированием, а также снижением фертильности пыльцы (от 94,55±1,13 до 82,95±13,31%). Однако, одно растение этой семьи - 192<sub>17</sub> характеризовалось сильным снижением выполненности пыльцы, вплоть до полустерильности (54,48±4,30%). Во второй семье – 193<sub>n</sub> десять изученных растений показали небольшое снижение фертильности пыльцы (от 93,79±1,90% до 85,22±3,31%). Кроме того, растение 193<sub>3</sub> выделялось существенным снижением фертильности пыльцы - до (61,84±3,38%). Сильное снижение фертильности пыльцы только у двух растений линии Л-481 указало с одной стороны на гетерогенность растений по этому признаку внутри линии Л-481, а с другой стороны - позволило предположить существование каких-то скрытых изменений

внутри кариотипа. Проведение анализа кариотипов у четырех растений двух семей с высокой фертильностью пыльцы обнаружило нормальную конъюгацию хромосом с формированием 26 бивалентов. К сожалению, изучить кариотип у двух растений этой линии с сильно сниженной фертильностью пыльцы не представилось возможным из-за того, что бутоны с мейозом на стадии метафаза-1 не были обнаружены. Таким образом, проведенный цитогенетический анализ растений двух семей линии Л-481 обнаружил сильное снижение фертильности пыльцы у двух растений разных семей. Это указало на существование скрытой гетерогенности по этому признаку внутри семьи и на возможное присутствие хромосомных aberrаций.

#### **С7-80. ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ СЕМЕННОГО ПОТОМСТВА ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ**

***Калаев В.Н., Игнатова И.В., Карпова С.С. \*, Попова А.А., Воронина В.С.***

*ГОУ ВПО Воронежский государственный университет (Воронеж), Россия*

\*e-mail: karpovass@mail.ru

В настоящее время активно исследуется гетерогенность естественных популяций и искусственных насаждений древесных растений на морфологическом, физиологическом, биохимическом и генетическом уровне. Это позволяет максимально использовать их потенциал при разработке и осуществлении комплексных программ по сохранению, воспроизведению и улучшению лесных ресурсов и озеленительных насаждений в городах. Нами впервые в ЦЧР выявлен полиморфизм по уровню стабильности генетического материала соматических клеток семенного потомства дуба черешчатого (*Quercus robur* L.), березы повислой (*Betula pendula* Roth), сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и ели белой (*Picea glauca* (Moench) Voss). Было установлено наличие мутабельных, слабомутабельных и промежуточных групп проростков и дана их цитогенетическая характеристика. Мутабельные группы характеризуются высоким уровнем патологических митозов в апикальной меристеме корня, широким спектром нарушений и увеличением в нем по сравнению со слабомутабельными группами доли aberrантных клеток с повреждением хромосом. В зависимости от исследованного вида и уровня стрессового воздействия на материнские деревья в данной группе возможны изменения митотической активности и скорости прохождения стадий митоза. У лиственных древесных также отмечается возрастание доли высокоактивных ядрышек корасердцевина на фоне увеличения частоты встречаемости многоядрышковых клеток. Для хвойных - увеличение (экологически «чистые» территории) или снижение (загрязненные территории) среднего числа ядрышек на клетку. Показано существование маточников, продуцирующих гетерогенное по уровню нарушений митотического аппарата семенное потомство. Разработаны критерии отбора таких деревьев. На их основании были выделены маточные деревья в искусственных насаждениях ели белой. Показана зависимость размеров слабомутабельной и мутабельной групп проростков в популяциях от условий произрастания материнских деревьев: у лиственных в естественных древостоях на экологически благоприятных территориях преобладает группа мутабельных проростков (25 – 40 % от общей выборки), на загрязненных – группа слабомутабельных проростков (27 – 30 %), что свидетельствует о снижении гаметического и зиготического отбора на «чистых» территориях, где выживают чувствительные к неблагоприятным факторам среды проростки. В древостоях на загрязненных территориях преимуществом в выживании обладают слабомутабельных (резистентные) проростки. Для хвойных отмечается противоположная тенденция: на слабозагрязненных территориях увеличиваются (от 8,9% до 33,3%) размеры мута-



бильной группы за счет уменьшения численности промежуточных групп. Объем слабомутабельной группы слабо варьирует. Полученные результаты могут использоваться для отбора маточных деревьев изученных видов, продуцирующих слабомутабельное семенное потомство (для целей лесовосстановления на загрязненных территориях) и мутабельное потомство (для использования в лесной селекции для отбора полезных мутантных генотипов).

#### **С7-81. СМЕНА ПАРАДИГМЫ РАЗВИТИЯ ЛЕСНОЙ СЕЛЕКЦИИ**

**Камалов Р.М.** \*, Камалова И.И.

ФГБУ Всероссийский НИИ лесной генетики, селекции и биотехнологии (Воронеж), Россия

\*e-mail: kamalov.r.m12@gmail.com

В период широкого развертывания работ по лесной селекции в СССР (1965-1980 гг.), была поставлена явно нереальная задача – методами селекции повысить продуктивность лесов на 15-70%. При этом был проигнорирован опыт сельского хозяйства, где селекционный сдвиг за одно поколение у разных признаков сельскохозяйственных культур составляет 1,2-2%. Слишком высокая планка поставленная перед лесной селекцией исказила ее развитие, нанеся лесному семеноводству большой вред. В частности, совершенно недостаточное внимание уделялось поддерживающей селекции, направленной на сохранение существующей продуктивности лесов. За прошедшие полвека лесной фонд России понес большие, возможно катастрофические потери. Например, за это время площадь дубрав Татарстана сократилась в 2 раза. Для повышения эффективности использования ограниченных ресурсов выделяемых для сохранения и увеличения продуктивности лесов предлагается использовать усовершенствованные популяционно-экологические культуры, которые будут отличаться от обычных популяционно-экологических культур тем, что популяции представлены семьями случайно отобранных в насаждениях деревьев, а не обезличенным потомством популяции. Это позволит в дальнейшем использовать их для решения сразу нескольких задач: сохранения генофонда, мониторинга генетической изменчивости и проведения эффективной селекции. Для создания таких культур могут быть использованы разные источники генофонда. В первую очередь это перестойные плюсовые и другие ценные насаждения, идущие в рубку, а также разрушающиеся генрезерваты. Такие культуры явятся экспериментальной базой для оценки и мониторинга генетического разнообразия количественных хозяйственно-ценных признаков. Включение в генетический анализ семей будет способствовать выявлению эффективных молекулярных маркеров признаков важных для лесоводства. Анализ существующих испытательных культур потомств плюсовых деревьев показывает, что в суммарном эффекте двух циклов отбора (отбор плюсовых деревьев в популяции, отбор по потомству) решающее значение имеет отбор по потомству. Поэтому дорогостоящие испытательные культуры потомств плюсовых деревьев можно заменить испытаниями потомств случайно отобранных в популяциях деревьев. Случайный отбор материнских деревьев дополнительно создаст потенциальную возможность проводить эффективную селекцию не только по актуальным в настоящее время признакам, но и по признакам, актуальность которых может выясниться в будущем. Как показывает опыт последних десятилетий, приоритеты в лесной селекции довольно быстро меняются. Возможность использования ранее заложенных многолетних испытательных культур для селекции в новом направлении является очень ценной. Усовершенствованные популяционно-экологические культуры многоцелевого назначения могут быть одним из главных элементов поддерживающей селекции.

#### **С7-82. ТОПОЛЬ СЕРЕЮЩИЙ (*POPULUS CANESCENS* SM.) – МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ ГЕНЕТИКО-СЕЛЕКЦИОННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ ДРЕВЕСНЫХ ПОРОД**

**Сиволопов А.И.** \*,<sup>1</sup> Сиволопов В.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Воронежская государственная лесотехническая академия (Воронеж), Россия;

<sup>2</sup>Филиал ФБУ Рослесозащита-ЦЗЛ Воронежской области (Воронеж), Россия

\*e-mail: Aleksey-Sivolapov@yandex.ru

На примере тополя сереющего (*Populus canescens* Sm.), как модельного объекта изучения, отработана система генетико-селекционных исследований, направленная на реализацию их основных теоретических и практических ценностей в лесорастительных условиях Центрального Черноземья и показана на 40-летнем собственном опыте. Аналогичный системно-методологический подход вполне применим к изучению других лесных пород в различных регионах страны. Освещена современная возросшая роль быстрорастущих пород в покрытии существующего и прогнозируемого дефицита древесины на основе генетики, селекции и биотехнологии. Спонтанно-гибридогенный вид – тополь сереющий, возникший от скрещивания тополя белого и осины, характеризуется огромным формообразованием. Среди клоновых микропопуляций этого тополя встречаются полиплоидные (миксоплоидные) формы, имеющие значение для теории интрогрессивной гибридизации и видообразования, для теории миксоплоидии и эпигенетики, спонтанного мутагенеза и полиплоидии у древесных растений, для изучения стерильности аллотриплоидных биотипов, изучения видоспецифичности молекулярных маркеров ДНК и возможности валентных скрещиваний. На тополе сереющем выполнены цитозембриологические, анатомо-гистологические, молекулярные исследования; показаны сортовыделение и сортоиспытание, получены патенты на селекционные достижения, разработаны технологии размножения, включая микрклональное размножение *in vitro*, и создание плантационных культур в ЦЧР. У аллотриплоидного сорта тополя сереющего Хоперский 1 отмечены нарушения в процессе формирования зародышевого мешка, поэтому у него высокий процент стерильных семян. Другой сорт - тополь сереющий Приярский (миксоплоид) отличается высокой плотностью древесины (как у дуба) и длинноволокнистостью. Тополь можно отнести к древесной породе, которая является идеальной моделью для изучения и практического внедрения методов генетики, систем селекции, размножения и создания плантационных культур целевого назначения.

#### **С7-83. ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ RAPD-МАРКЕРОВ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ КЛОНОВ И СЕМЕЙ НА СЕМЕННЫХ ПЛАНТАЦИЯХ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО (*QUERCUS ROBUR*)**

**Камалова И.И.** \*, Карпеченко Н.А., Вепринцев В.Н.

ФГБУ Всесоюзный НИИ лесной генетики, селекции и биотехнологии (Воронеж), Россия

\*e-mail: kamairi@yandex.ru

Изучена генетическая изменчивость семи RAPD праймеров у 50 плюсовых деревьев дуба черешчатого из Шипова леса (Воронежская область), у их вегетативного потомства и потомства, выращенного из желудей собранных под кронами плюсовых деревьев, произрастающих на прививочной клоновой и на семейственной лесосеменных плантациях (автор плантаций Ю.П.Ефимов). Использованные RAPD праймеры значительно различались у плюсовых деревьев по показателям генетического разнообразия и информативности. Для целей дифференцирования клонов и семенных потомств из семи исследованных было выбрано три

праймера, обладающих наибольшей изменчивостью, информативностью и специфичностью. Уровень их специфичности был достаточно высоким и позволял при использовании любых двух полностью дифференцировать клоны на вегетативной плантации и подтвердить их принадлежащих к исходным плюсовым деревьям. Не было обнаружено внутриклоновой изменчивости RAPD праймеров – спектры рамет в пределах каждого клона были идентичны и соответствовали спектрам материнских деревьев. При анализе семенного потомства между семьями были выявлены значительные различия по спектрам ампликонов праймеров, величине генетических дистанций Нея и мере идентичности. Принадлежность к исходным материнским деревьям была идентифицирована только у семей наиболее дифференцированных на основе дистанций Нея. Для семей, занимающих промежуточное положение диагностической силы RAPD маркеров оказалось недостаточно. Поэтому при идентификации принадлежности семенного потомства дуба черешчатого RAPD маркеры целесообразно дополнить анализом изоферментов. Использование двух типов молекулярных маркеров повысит диагностические возможности молекулярно-генетического анализа. Параметры генетической изменчивости RAPD-маркеров у дуба черешчатого на клоновой и семейственной лесосеменных плантациях полностью соответствовали уровню генетической изменчивости дуба в естественном насаждении. Можно считать перспективным и целесообразным использование RAPD маркеров для идентификации клоновой принадлежности у дуба черешчатого. Эти маркеры отличаются высоким полиморфизмом и экономически выгодны из-за своей относительно низкой стоимости. Уровень их изменчивости позволяет установить клоновую принадлежность рамет и их соответствие материнским деревьям с использованием небольшого числа праймеров, которые необходимо подбирать предварительно. Сложности с воспроизводимостью результатов в разных лабораториях не имеют особого значения, если анализы проводятся в пределах одной лаборатории. При необходимости уточнения результатов идентификации и для проведения паспортизации генотипов требуется подключать кодоминантные молекулярные маркеры, такие как изоферменты. Микросателлиты из-за высокой стоимости их анализа будут эффективны, когда не требуется массовый анализ.

#### **С7-84. ПРОЯВЛЕНИЕ АДАПТИВНОГО И СОМАТИЧЕСКОГО ГЕТЕРОЗИСА ПРИ ГИБРИДИЗАЦИИ В РОДЕ *POPULUS* L.**

**Царев А.П.**

*Петрозаводский государственный университет (Петрозаводск), Россия*

\*e-mail: antsa\_55@yahoo.com

Тополь является одной наиболее быстрорастущей древесной породой умеренного климата. Это единственная древесная порода, для которой при ФАО ООН создана специальная Международная тополевая комиссия. Исследования по гибридизации тополей начаты автором в 1974 г. в Воронежской области как продолжение предпринятых ранее работ профессора М.М. Вересина. В качестве исходного материала для новой серии скрещиваний были отобраны как местные, так и интродуцированные растения. В настоящем сообщении приведены результаты гибридизации представителей трех секций тополей: *Albidae* Dode, *Aegiri* Dode и *Tacamahaca* Sprach. При скрещивании белых тополей ставилась задача получить декоративные растения с пирамидальной кроной и высокой зимостойкостью. В качестве носителя высокой зимостойкости был выбран местный тополь белый (*P. alba* L.). Отцовским растением был носитель декоративных свойств тополь Болле (*P. alba* var. *bolleana* Lauche), произрастающий в Астраханской области, обладающий пирамидальной кроной, но являющийся неустойчивым к зимним морозам в Воронежской

области. В полученной гибридной семье от скрещивания этих двух растений было выделено два декоративных культивара 'Болл' и 'Ведуга'. Оба культивара отличаются зимостойкостью в условиях лесостепи. 'Болл' обладает колонновидной кроной; в возрасте 35 лет его диаметр на высоте 1,3 м составлял 31 см, а высота 24 м. 'Ведуга' имеет пирамидальную крону и более мощный рост; в этом возрасте ее диаметр достигал 42 см, а высота 24,5 м. При гибридизации в секции черных тополей выделен культивар 'Стенная Лада', полученный от скрещивания *P. deltooides* Ч Пирамидально-осокоревый Камышинский (селекции А.В. Альбенского). Он отличается зимостойкостью и мощным ростом. В возрасте 35 лет он показал диаметр 48 см и высоту 27 м, - рекорд для этой серии гибридов. В секции бальзамических тополей лучшие показатели зимостойкости и роста были у культивара 'Былина', полученного от скрещивания *P. trichocarpa* Ч э. с. 38 (селекции М.М. Вересина). В возрасте 35 лет его диаметр достигал 35 см, а высота 21 м. Отобранные культивары за время их длительного онтогенеза успешно перенесли неблагоприятные зимы, засушливые периоды, влияние сильных ветров и показали выраженный гетерозис, что позволяет рекомендовать их в широкую практику, а также в качестве исходного материала для дальнейшей селекции.

#### **С7-85. ПОЛИМОРФИЗМ ВЕГЕТАТИВНЫХ И ГЕНЕРАТИВНЫХ ОРГАНОВ *AESCLYUS HIPPOCASTANUM* L. В УЗБЕКИСТАНЕ**

**Чернодубов А.И., Фазилова Н.Ф.**

*Воронежская государственная лесотехническая академия (Воронеж), Россия*

\*e-mail: leskulvlgta@gmail.com

Каштан конский обыкновенный широко используется как перспективная порода в зеленом строительстве Узбекистана. Однако до настоящего времени не проведено изучение уровней изменчивости различных фенотипических признаков и показателей вегетативных и генеративных органов. Нами было проведено изучение эндогенной и индивидуальной изменчивости листьев (длина, ширина, длина черешка, число жилок и зубчиков листовой пластинки), семян (высота, диаметр, цвет кожуры, масса 1000 штук) и соцветий (длина, число боковых осей, цветков, доля женских). На основе многомерного анализа установлено, что наиболее константными признаками листьев являются – длина черешка и число зубчиков, у семян – цвет семенной кожуры. Высказана гипотеза о том, что эти показатели, возможно, использовать как признаки-фены при селекции на устойчивость к неблагоприятным факторам мегаполисов. Остальные показатели имеют высокие уровни индивидуальной изменчивости и сильно зависят от условий внешней среды.

#### **С7-86. СЕЛЕКЦИЯ САДОВЫХ КУЛЬТУР ВО ВНИИС ИМ. И.В. МИЧУРИНА**

**Жидехина Т.В. \*, Трунов Ю.В., Пугачёва Г.М.**

*ГНУ Всероссийский НИИ садоводства им. И.В. Мичурина Россельхозакадемии (Мичуринск), Россия*

\*e-mail: berrys-m@mail.ru

В связи с интенсификацией сельскохозяйственного производства и переводом его на промышленную основу в условиях глобального изменения климата требования к новым сортам непрерывно возрастают. Основываясь на достижениях современной генетики, селекционеры ВНИИС им. И.В. Мичурина поставили перед собой задачу преодоления отрицательных корреляций между продуктивностью и биологическими свой-

твами сортов (зимостойкостью, скороплодностью, устойчивостью к болезням и т.д.). За 2009-2013 годы к использованию в производстве допущены сорта селекции института: Сенсей (смородина черная), Мавр (астра однолетняя), Сиреневый вечер (гладиолус гибридный), Ария, Знойное лето, Октава, Солнечное утро, Твоя улыбка, Фламинго и Южная ночь (лилии азиатской группы и трубчатые гибриды). На государственное испытание передано 23 новых сорта, в том числе - Дымчатое, Мечта, Цветаевское (яблоня), Диво Звягиной, Талисман, Пандора (смородина черная), Звездочёт, Орфей, Сфинкс (крыжовник), Княгиня, Лёня, Пётр первый, Северное сияние, Трое друзей (жимолость), Гейша, Ёжик, Мичуринский юбилейный (шиповник), Подарок Куминова (боярышник), Баллада, Диско, Знойное лето, Октава, Солнечное утро (лилии). Создание сортов ягодных культур связано с привлечением в селекционный процесс обширного генофонда, видов, межвидовых гибридов, полукультурных разновидностей, использованием традиционных и новых эффективных методов селекции. Так, новые сорта смородины черной получены с участием, в различных сочетаниях, геноплазмы *Ribes nigrum* spp. *europaeum*, *Ribes nigrum* spp. *sibiricum*, *Ribes nigrum* spp. *scandinavicum*, *Ribes dikuscha*, *Ribes ussuriensis*; крыжовника - *Grossularia reclinata*, *Grossularia inermis*, *Grossularia succirubra*, *Grossularia hirtella*, *Grossularia robusta*; жимолости - *Lonicera kamschatica*, *Lonicera edulis* и т.д. Использование эмбриокультуры позволило получить отдаленные гибриды между восточными и трубчатыми, азиатскими и трубчатыми лилиями, сеянцы от самоопыления. Анализ литературных источников показывает, что практическая селекция может достигнуть значительных успехов, если наряду с использованием генетических методов будет учитывать физиологическую природу внутренних и внешних факторов, обуславливающих продуктивность, скороплодность, устойчивость к стресс-факторам и другие признаки и свойства растений. В наших исследованиях установлено, что количественные различия по фотосинтетическим показателям, равно как и закономерности их фенотипической изменчивости создают реальную базу для использования особенностей фотосинтеза разных генотипов ягодных культур в селекционных программах. Так, по смородине черной отобраны гибридные растения, которые по фотосинтетическим показателям продуктивности находятся на уровне лучшего родительского сорта и трансгрессивные формы, имеющие превышение до 10 - 15%.

#### \*С7-87. РОЛЬ ОТДАЛЕННОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ В СЕЛЕКЦИИ ВИШНИ

*Джигадло Е.Н.*

ГНУ ВНИИ селекции плодовых культур (Орел), Россия  
e-mail: info@vniispk.ru

Проблема выведения сортов вишни к грибным заболеваниям до сих пор актуальна. Считают, что устойчивость к коккомикозу контролируется полигенами. Более высокий процент устойчивых сеянцев получается, если один из родителей устойчив. Отмечается низкая наследственная устойчивость к пятнистости у потомств от диаллельных скрещиваний, включающих вишню обыкновенную, черешню, вишне-черешневые гибриды. Однако добиться устойчивости к монилиозу с хорошим качеством плодов возможно. Работы по получению источников и доноров в селекции на устойчивость к коккомикозу и монилиозу начаты в институте с 1986 года. В результате селекционного отбора в качестве источников и доноров в селекции на устойчивость к коккомикозу и монилиозу рекомендован ряд гибридных форм первого поколения, полученных с участием диплоидных видов. 74329 (Любская х *S. lannesiana*

2). Дерево сильнорослое. Цветение до 5 баллов, плодоношение 1 балл. Максимальный балл поражения коккомикозом 0, монилиозом 1. Плоды средние, 4,0 г, почти черные, кисло-сладкие, вкус 3,8 балла. 74331 (Любская х *S. lannesiana* 2). Дерево сильнорослое. Цветение до 5 баллов, плодоношение 1 балл. Максимальный балл поражения коккомикозом 0, монилиозом 1. Плоды мелкие, 2,5 г, почти черные, кисло-сладкие, вкус 3,6 балла. 82990 (Памяти Вавилова х 12-1а-320). Дерево среднерослое. Цветение до 4 баллов, плодоношение до 3 баллов. Максимальный балл поражения коккомикозом 0,1, монилиозом 1. Плоды довольно крупные, до 5 г, темно-красные, кисло-сладкие с небольшой горчинкой, вкус 4,1 балла. Эта форма получена с использованием сепарированной пыльцы 12-1а-320. 85017 (Любская х *Padellus Maximowiczii*). Дерево среднерослое. Цветение до 3 баллов, плодоношение до 3 баллов. Максимальный балл поражения коккомикозом 1, монилиозом 1. Плоды мелкие, 2,3 г, почти черные, кисло-сладкие, вкус 3,9 балла. Характеристика генотипов отдаленных гибридов с использованием RAPD метода показала, что нижний уровень генетической связи (индекс 0,528-0,628) присущ большинству сортообразцов, принадлежащих отдаленным видам. Первый этап работы, проведенной на основе RAPD анализа, выявил возможность по картине расположения сегментов ДНК отдаленных гибридов вишни определить уровень генетического родства их между собой и на этой основе прогнозировать проявление хозяйственно-ценных признаков у отдаленных гибридов. В дальнейших исследованиях возможна идентификация сегментов, отвечающих за определенные селектуемые признаки, в частности, устойчивости к грибным заболеваниям. Считаем, что для подсемейства Prunoideae следует признавать на уровне более 0,5.

#### С7-88. ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ИНТРОДУЦИРОВАННОГО И АВТОХТОННОГО ГЕНОФОНДА ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР СЕВЕРНОГО КAVKAZA

*Супрун И.И. \*, Токмаков С.В., Степанов И.В.*

ГНУ Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства (Краснодар), Россия  
\*e-mail: supruni@mail.ru

Изучение биологического разнообразия является одним из наиболее важных научных направлений в генетике культурных растений. В настоящее время наиболее эффективными методами для изучения генетического разнообразия, выяснения филогенетических взаимосвязей на различных таксономических уровнях являются методы, основанные на использовании ДНК-маркеров. К наиболее информативным ДНК-маркерам относят микросателлитные последовательности ДНК (SSR). Главной задачей наших исследований является изучение генетического разнообразия генофонда плодовых культур Северного Кавказа. В работе использовали 22 SSR маркера для рода *Malus*; 16 для рода *Prunus*; 16 для рода *Pyrus*. ДНК-маркеры для выполнения исследований отбирались с учетом таких параметров, как уровень полиморфизма, уровень воспроизводимости у разных видов внутри рода (для SSR-маркеров рода *Prunus*) и между родами (для родов *Malus* и *Pyrus*), степень использования ДНК-маркеров при изучении мирового генофонда целевых видов. ДНК-маркеры были сгруппированы в мультиплексные наборы (всего 18 наборов), включающих от двух до четырех маркеров. Группировка проводилась с учетом следующих условий – маркеры в наборе должны были иметь одинаковые температуры отжига, быть мечены различными красителями и иметь продукты амплификации не перекрывающегося размера. Фрагментный анализ проводили



на автоматическом генетическом анализаторе ABI prism 3130. На следующем этапе работы выполнили генотипирование образцов (сортов, подвоев, видовых образцов) с использованием разработанных мультиплексных наборов SSR-маркеров и получены ДНК-фингерпринты для изученных генотипов. Полученные микросателлитные ДНК - фингерпринты для сортов плодовых культур отечественной селекции и видовых образцов позволяют сформировать генетическую базу данных для плодовых культур. Помимо SSR-маркеров, с целью изучения межвидового полиморфизма в пределах родов *Malus*; *Prunus* и *Pyrus*, нами были использованы универсальные праймерные пары, фланкирующие вариабельные участки генов транспортных РНК: *tRNAHis* и *tRNAlys* хлоропластного генома высших растений с последующей рестрикцией амплифицированных фрагментов эндонуклеазами рестрикции EcoRI, AluI, HindIII, PstI. Комбинации праймерных пар и эндонуклеаз НК+PstI, НК+HindIII, K1K2+AluI и K1K2+EcoRI не выявили полиморфизма. В дальнейшем, планируется апробировать дополнительные комбинации праймер/фермент. Полученные данные дополняют научные знания как об уровне полиморфизма использованных микросателлитных ДНК-маркеров, так и в целом о степени генетического разнообразия мирового генофонда плодовых культур.

Исследования выполняются при поддержке РФФИ: проект № 13-04-02089\_a.

#### **C7-89. МОНОЛОКУСНЫЕ И ПОЛИЛОКУСНЫЕ ДНК-МАРКЕРЫ В СЕЛЕКЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

***Лазебная И.В.*** <sup>\*1</sup>, ***Перчун А.В.*** <sup>1,2</sup>, ***Белокуров С.Г.*** <sup>3</sup>, ***Рузина М.Н.*** <sup>1</sup>, ***Сулимова Г.Е.*** <sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>Селекционный центр (ассоциация) по бурым породам крупного рогатого скота при ФГБОУ ВПО Костромской ГСХА (Кострома), Россия;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВПО Костромская ГСХА (Кострома), Россия  
\*e-mail: lazebnaya@mail.ru

Исследована изменчивость ряда пород крупного рогатого скота с использованием монолокусных и полилокусных маркеров в связи с количественными селекционно-ценными признаками. Получены оценки изменчивости костромской (n=314), ярославской (n=120) пород крупного рогатого скота отечественной селекции на основе полиморфизма генов, продукты которых вовлечены в контроль белкового и липидного обмена, регуляцию транскрипции генов белков молока, такие как: ген транскрипционного фактора *Pit-1*, ген главного комплексного гистосовместимости *BoLA-DRB3.2*; гены, кодирующие пролактин (*bPRL*), гормон роста (*bGH*) и его рецептор; ген, экспрессирующийся с образованием ключевого фермента синтеза жирных кислот стерол-СоА десатуразы (*SCD*), а также ген, кодирующий рецептор ретиноевой кислоты *C (RORC)*, гены диацилглицерол-ацилтрансферазы 1 (*DGAT1*). Кроме того, исследован полиморфизм межмикросателлитной последовательности, маркированной олигонуклеотидными последовательностями (AG)<sub>8</sub>C и (GA)<sub>8</sub>C. Проведен сравнительный анализ пород между собой и с другими отечественными и зарубежными породами. Исследовано влияние изученных генов на селекционно-ценные признаки крупного рогатого скота, среди которых параметры молочной продуктивности, такие как содержание и выход молочного жира и белка, и признаки мясной продуктивности, касающиеся динамики набора веса от рождения до 18 месяцев. Установлены гены, влияющие на отдельные признаки у данных пород.

#### **C7-90. ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ РОМАНОВСКОЙ ПОРОДЫ ОВЕЦ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ISSR-МАРКЕРОВ**

***Нестерук Л.В.*** <sup>\*1</sup>, ***Макарова Н.Н.*** <sup>2</sup>, ***Евсюков А.Н.*** <sup>1</sup>, ***Столбовский Ю.А.*** <sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>ООО «АгриВолга» (Узлич), Россия

\*e-mail.ru: lyubov-kas@mail.ru

Генетическое разнообразие сельскохозяйственных животных исчезает, это факт, который признает международное сообщество. В связи с этим для обеспечения, прежде всего, продовольственной безопасности необходимо обеспечить сохранение имеющихся генетических ресурсов и использовать стратегии разведения, которые сведут к минимуму эрозию генетического разнообразия. Объектом нашего исследования стали романовские овцы - уникальная отечественная порода, которая обладает великолепными шубными качествами, самой высокой плодовитостью, хорошими мясными качествами и скороспелостью. Благодаря универсальной продуктивности романовская порода активно используется для улучшения различных пород во многих странах мира. Однако в конце XX века численность романовской породы в России значительно снизилась, что привело к снижению генетического разнообразия и показателей продуктивности. В связи с этим основная цель нашей работы заключалась в следующем: выявить, оценить, а в дальнейшем использовать полученные данные по молекулярной генетике в селекционной работе в ведущих племенных и генофондных хозяйствах. Для изучения генетического разнообразия нами был использован метод мультилокусного межмикросателлитного анализа (ISSR - Inter-Simple Sequence Repeats). Возможности использования данных ISSR-PCR в селекционно-племенной работе были показаны ранее на основных domestцированных видах. Нашей задачей стал анализ параметров генетического разнообразия, генеалогических связей среди различных популяций романовских овец, а также определение наиболее типичных и оригинальных особей популяций с точки зрения разнообразия и их соответствия породе. Генофонд романовской породы был изучен с использованием двух ISSR-праймеров ((AG)<sub>9</sub>C и (GA)<sub>9</sub>C). Исследовали поголовье романовских овец из пяти ведущих генофондных и племенных хозяйств Ярославской области. Для каждой популяции с помощью праймеров определены специфические спектры фрагментов ДНК в диапазоне от 2500 до 160 п.н. Всего по двум праймерам было выявлено 43 фрагмента ДНК (25 фрагментов по (AG)<sub>9</sub>C, 18 – по (GA)<sub>9</sub>C), 35 из которых были полиморфными (20 фрагментов по (AG)<sub>9</sub>C, 15 – по (GA)<sub>9</sub>C). Изученные группы животных романовской овцы имели отличия как по наличию/отсутствию, так и по частоте встречаемости определенных фрагментов в спектрах амплификации. На основании данных по частотам ISSR-маркеров были рассчитаны попарные генетические расстояния между изученными популяциями, гетерозиготность, параметры генетической структуры и дифференциации популяций (HT, HS и GST), а также среднее число фрагментов ДНК (μ), доля редких фрагментов (h) и коэффициент генетической оригинальности (КГО). Значения данных параметров (μ, h) по каждому праймеру отдельно варьируют в популяциях незначительно, большие различия наблюдаются при сравнении значений по двум праймерам в каждой популяции. На основе значений КГО были выделены наиболее оригинальные (специфичные) особи в общей популяции исследованных животных и в каждой популяции отдельно. Полученные данные по КГО для популяций в целом, позволили выделить базовые и специфические генофонды романовских овец, что предложено использовать в селекционно-племенной работе, направленной, в том числе, и на сохранение внутри породного генетического разнообразия.

**C7-91. ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ГОРМОНАЛЬНОГО СОМАТРОПИНОВОГО РЯДА, ИЗУЧАЕМЫХ В КАЧЕСТВЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ МАРКЕРОВ ПРОДУКТИВНОСТИ В СВИНОВОДСТВЕ**

**Романишко Е.Л.** \*, Михайлова М.Е.

*ГНУ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси*

*(Минск), Республика Беларусь*

\*e-mail: lenaramanishko@mail.ru

Основной задачей свиноводства является выведение новых высокопродуктивных пород и линий животных. В связи с этим, большое значение имеет изучение полиморфизма генов, белковые продукты которых отвечают за проявление важных количественных признаков у животных. На ростовые процессы организма влияет комплекс факторов. Важная роль в этих процессах принадлежит гормону роста. Регуляция синтеза гормона роста представляет собой многоуровневый каскад взаимодействий «белок-рецептор», тесно связанных между собой. Изменения в любом из звеньев могут влиять на фенотипические проявления количественных признаков продуктивности у сельскохозяйственных животных. Исследован полиморфизм генов соматропиновой оси (pGH/MspI, pGH/FokI, pIGF-1/HhaI, pIGF-2/NciI (2 интрон)) в выборках популяции свиньи домашней (*Sus Scrofa domesticus*) методом ПЦР-ПДРФ. Ген гормон роста (pGH) отвечает за синтез гормона роста, главной функцией которого является стимуляция роста и развития животного. В нашем исследовании изучен полиморфизм гена pGH/MspI. Частота гомозиготного генотипа AA-pGH/MspI была 68,08 %. Частота генотипа AG-pGH/FokI была наибольшей (60,98%). Рост-стимулирующий эффект гормона роста опосредован инсулиноподобными факторами роста: IGF-1 и IGF-2. Ген pIGF-2 определен как ген-кандидат увеличения мышечной массы и отложения жира. Частота предпочтительного генотипа BB-pIGF-2/NciI составила 51,33 %. Были выявлены ассоциации отцовских генотипов по гену IGF-2 (2 интрон) с откормочными и мясными качествами потомков. У потомков носителей генотипа АВ и ВВ отмечается тенденция к увеличению среднесуточного прироста живой массы на 1,1 - 1,4% и, соответственно, к снижению срока откорма до массы 100 кг на 1-2 дня в сравнении с потомками носителей генотипа АА. Ген pIGF-1 – потенциальный маркер скорости роста, так как осуществляет регуляцию процессов роста, развития и дифференцировки клеток и тканей организма. В нашем исследовании изучен полиморфизм G201A в 3 экзоне гена pIGF-1/HhaI. Частота генотипа BB-pIGF-1/HhaI составила 96,27%. Частота генотипа AA-pIGF-1/HhaI равна 0,75 %. Согласно литературным данным, аллель А гена pIGF-1/HhaI является нежелательным и предположительно связан с низкой скоростью роста особи. Таким образом, гены соматропинового ряда, белковые продукты которых участвуют в регуляции синтеза гормона роста и реализации его метаболических эффектов, могут рассматриваться как генетические маркеры продуктивности в свиноводстве. Использование генетических маркеров на практике дает возможность быстро и эффективно оценить генетический потенциал животного для селекционно-племенной работы.

**C7-92. ЛОКАЛИЗАЦИЯ МИКРОСАТЕЛЛИТА ADL0125 НА МИТОТИЧЕСКИХ ХРОМОСОМАХ ДОМАШНЕЙ КУРИЦЫ (*GALLUS G. DOMESTICUS*)**

**Рубцова Е.Р.** \*, Трухина А.В., Смирнов А.Ф.

*Санкт-Петербургский государственный университет*

*(Санкт-Петербург), Россия*

\*e-mail: afsmirnov@bio.spb.ru

В работе были использованы геномная ДНК и препараты митотических хромосом курицы породы «Белоснежная рус-

ская», а также набор хромосомоспецифичных ВАС-клонов *E.coli* (для микрохромосом 9-24, 26-28, W) и праймеры для микросателлитов ADL0125, MCW0119 и ADL0324 и генов FZF и BMP7, подобранные с помощью программы Primer 3. Все праймеры были проверены на специфичность с помощью секвенирования полученных амплификатов и последующего сравнения их последовательностей с последовательностями из базы данных NCBI. Основными подходами для локализации микросателлита ADL0125 на митотических хромосомах курицы были ПЦР и флуоресцентная гибридизация *in situ*. На основании полученных результатов были сделаны следующие выводы: 1) микросателлит ADL0125 сцеплен с микросателлитами MCW0119 и ADL0324 и с генами FZF и BMP7; 2) микросателлиты ADL0125, MCW0119 и ADL0324 расположены между генами FZF и BMP7; 3) известные группы сцепления E47W24 и E32 можно объединить в одну группу сцепления E32\_E47W24; 4) микросателлит ADL0125 и вся группа сцепления E32\_E47W24 расположены в микрохромосоме 20.

**C7-93. РАЗРАБОТКА И АПРОБАЦИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИПОВ T1/R1-ПЛАЗМИД АГРОБАКТЕРИЙ**

**Владимиров И.А.** \*, Матвеева Т.В., Лутова Л.А.

*Санкт-Петербургский государственный университет*

*(Санкт-Петербург), Россия*

\*email: ivanpentod@gmail.com

Агробактерии – род граммотрицательных почвенных бактерий из семейства Rhizobiaceae. Наиболее известной особенностью агробактерий является способность к переносу наследственной информации в клетки растений и ее устойчивому встраиванию, приводящему к образованию опухолей, синтезирующих усваиваемые агробактериями опинов. Агробактерии представляют практический интерес как важнейший биотехнологический инструмент и как распространенный фитопатоген. Важной характеристикой агробактерий, сильно влияющей на свойства штамма, является набор секретлируемых опухолю опинов. Целью работы является создание тест-системы, позволяющей выявлять набор генов биосинтеза опинов с помощью метода ПЦР в режиме реального времени, как наиболее подходящего для быстрого исследования больших количеств материала. В ходе работы произведен подбор праймеров и зондов к распространенным генам биосинтеза опинов (нопалинсинтазы, октопинсинтазы, агропинсинтазы, микимопинсинтазы), их проверка на образцах ДНК различных штаммов и на образцах ДНК из почвы. Также разработан ряд вспомогательных технологий: методы выделения ДНК из материала, малопригодного для выделения обычными методами (почва, кора, древесина), метод очистки ДНК. Разработанные тест-системы позволяют быстро определять тип T1/R1-плазмид по набору генов биосинтеза опинов, что может быть использовано в филогеографических исследованиях, в сельском хозяйстве, при описании новых штаммов агробактерий. Работа выполнена за счет средств тематического плана НИР СПбГУ № 0.37.87.2011 «Метагеномный анализ микробиома как многофункционального высокоинтегрированного биосферного «интерфейса» с использованием оборудования ресурсного центра СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий»

**C7-94. БАКТЕРИАЛЬНЫЙ СИНТЕЗ НАНОЧАСТИЦ**

**Воейкова Т.А.** \*,<sup>1</sup> Емельянова Л.К.<sup>1</sup>, Шебанова А.С.<sup>2</sup>,

**Шайтан К.В.**<sup>2</sup>, Новикова Л.М.<sup>1</sup>, Крестьянова И.Н.<sup>1</sup>, Дебабов В.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГУП Государственный НИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов (Москва), Россия;

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (Москва), Россия

\*e-mail: voeikova@genetika.ru

С помощью металл-восстанавливающей электрогенной бактерии *Shewanella oneidensis* MR-1 из водного раствора  $\text{AgNO}_3$  и  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  при нормальной температуре и давлении получены наночастицы  $\text{Ag}_2\text{S}$  с распределением по размеру от 2 до 16 нм, при этом около 70% частиц имеет размер от 6 до 12 нм в разных образцах. Анализ наночастиц  $\text{Ag}_2\text{S}$  методом просвечивающей электронной микроскопии показал, что частицы имеют сферическую форму и средний диаметр от 7+2 до 9+2 нм. Методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии определен элементный состав синтезированных частиц, рассчитанное атомное соотношение серебра и серы составило 2:1. Показано, что изменение условий реакции (концентрации реагентов, температуры, времени инкубации клеток в реакционной смеси) резко изменяет выход наночастиц, но незначительно влияет на их размеры. Исследована роль клеточной поверхности бактерии *S. oneidensis* MR-1 в процессе биосинтеза наночастиц сульфида серебра в реакционном растворе азотнокислого серебра и тиосульфата натрия. Установлено, что эффективный синтез наночастиц помощью этой бактерии происходит на поверхности клеток, затем частицы диффундируют в раствор. Установлено, что образование наночастиц не происходит в клетках инактивированных нагреванием, но происходит в клетках инактивированных действием антибиотиков, что подразумевает участие в процессе нативных структур клетки. Разработан метод раздельного бактериального восстановления тиосульфата натрия до сульфидов с последующей реакцией бесклеточной жидкости с ионами  $\text{Ag}^+$  для оценки возможности образования наночастиц вне поверхности клетки. Показано, что наночастицы могут образовываться, но с меньшей эффективностью и не на клеточной поверхности. Обнаружено различие в форме и размере наночастиц, синтезированных на клеточной поверхности и наночастиц, образованных вне клетки. Эти результаты указывают на возможность существования нескольких механизмов образования наночастиц сульфида серебра с помощью бактерии *S. oneidensis* MR-1. Установлены оптимальные параметры процесса получения наночастиц сульфида серебра при которых выход наночастиц по серебру превышает 70%. Показано, что мутанты *S. oneidensis* с повышенной редуцирующей активностью ускоряют синтез наночастиц на 20-25% по сравнению с исходным штаммом *S. oneidensis* MR-1. Полученные наночастицы охарактеризованы с использованием методов просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) и энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии в отношении размеров, дисперсности и химического состава. Исследования частично поддержаны грантом РФФИ №13-04-00220-а.

#### **С7-95. ПОЛУЧЕНИЕ МУТАНТНЫХ ШТАММОВ ЦИАНОБАКТЕРИИ *ANABAENA VARIABILIS* С ПОВЫШЕННЫМ УРОВНЕМ ПРОДУКЦИИ ВОДОРОДА**

**Женавчук О.Ф. \*, Карбышева Е.А., Михеева Л.Е.**

МГУ им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет

\*e-mail: yennifer.v@gmail.com

Разработка методов использования цианобактерий для получения молекулярного водорода на основе биоконверсии солнечной энергии – актуальная проблема фотобиотехнологии. Способность цианобактерий продуцировать фотоводород связана с функционированием гидрогеназ и нитрогеназ. Активность этих ферментных систем зависит от сбалансированного функционирования генов фотосинтеза, пентозо-фосфатного цикла, азотного метаболизма, транспорта металлов, цепей переноса элек-

тронов. Впервые мутанты цианобактерии *Anabaena variabilis* ATCC 29413 с повышенным уровнем выделения водорода были получены на кафедре генетики МГУ до 1994 года с помощью химического мутагенеза. Эти мутанты (PK17 и PK84) обладали сниженной гидрогеназной активностью по сравнению со штаммом дикого типа. В результате полногеномного секвенирования PK17 и PK84 выявлено большое количество (около 100) мутаций, индуцированных нитрозогуанидином. Среди них были обнаружены две миссенс-мутации, локализованные в генах, непосредственно контролирующих процесс рециклизации водорода, образующегося в нитрогеназной реакции: *hupL* (кодирует большую субъединицу поглощающей гидрогеназы) и *hupF* (кодирует белок, необходимый для посттрансляционной модификации поглощающей и бинаправленной гидрогеназы). Для доказательства роли мутаций в генах *hupL* и *hupF* в повышении уровня продукции водорода нами проведена инсерционная инактивация данных генов в клетках дикого типа *A. variabilis*. На основе вектора pGEM-T Easy были получены конструкции, содержащие инактивированные кассетой устойчивости к гентамицину копии генов *hupL* и *hupF*. Данные фрагменты были переклонированы в вектор положительной селекции pRL498, способный к мобилизации в клетки *A. variabilis* в присутствии плазмиды-помощника pRL623 и штамма, несущего конъюгативную плазмиду pRL443. Полученные конструкции были использованы в трехродительских скрещиваниях для получения инсерционных мутантов HupF::Gm и HupL::Gm. Полученные мутантные штаммы характеризуются повышением уровня продукции водорода в 3-4 раза по сравнению с культурой дикого типа за счет снижения скорости его утилизации поглощающей гидрогеназой. Полученные мутанты будут использованы как платформа для создания новых перспективных штаммов-продуцентов водорода путем введения дополнительных мутаций в генах-кандидатах (гены ферредоксин-тиоредоксин редуктазы, азотистого метаболизма, фикобилисом), способных влиять на эффективность нитрогеназной реакции и таким образом повышать уровень продукции фотоводорода.

#### **С7-96. СТРУКТУРА И ФУНКЦИЯ СЛОЖНЫХ ПОЛИМЕРНЫХ ЛОКУСОВ *LAC1*, *LAC2* И *LAC3* У МОЛОЧНЫХ ДРОЖЖЕЙ *KLUYVEROMYCES LACTIS* VAR. *LACTIS***

**Наумов Г.И. \*,<sup>1,2</sup>, Наумова Е.С. <sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Научно-исследовательский и учебно-методический центр биомедицинских технологий ВИЛАР РАСХН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>Государственный НИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов (Москва), Россия

\*e-mail: gnaumov@yahoo.com

*Kluyveromyces lactis* являются вторым, после *Saccharomyces cerevisiae*, объектом в фундаментальных и прикладных исследованиях дрожжей. Большое внимание уделяется изучению кластера-регулона, содержащего бета-галактозидазный ген *LAC4* и ген *LAC12* лактозной пермеазы дрожжей *Kl. lactis*. Тем не менее, неизвестна связь этих генов с полимерными локусами *LAC1* и *LAC2*, обнаруженными А. Герман и Г. Халворсоном еще в 1963 г. Используя тетрадный анализ, Саузерн-гибридизацию и секвенирование генов мы обнаружили, что *LAC1* и *LAC2*, а также новый локус *LAC3*, имеют сложную структуру: каждый из них состоит из кластера *LAC4-LAC12*. Согласно молекулярному картированию *LAC1* и *LAC2* (ранее известный как *LAC4-LAC12*) и *LAC3* кластеры находятся, соответственно, в хромосомах III, II и IV. Принимая во внимание полученные данные, мы предлагаем новую номенклатуру генов *LAC*: (*LAC4-LAC12*)1, (*LAC4-LAC12*)2, (*LAC4-LAC12*)3, (*LAC4*)1, (*LAC4*)2, (*LAC4*)3, (*LAC12*)1, (*LAC12*)2 и (*LAC12*)3. Обнаружение строения сложных полимер-



ных локусов *LAC* открывает новые возможности в изучении их внутри- и межвидовой эволюции. Наше сообщение посвящено памяти известного зомолога А. Герман (США).

#### C7-97. МИКРОБНЫЙ СИНТЕЗ АМИНОКИСЛОТ

**Стойнова Н.В.**

ЗАО «Научно-исследовательский институт

Аджиномото-Генетика» (Москва), Россия

e-mail: nataliya\_stoynova@agri.ru

Практические приложения метаболической инженерии включают целый ряд подходов, основанных на фундаментальных знаниях о механизмах функционирования живых клеток. Можно выделить ряд важных этапов в развитии методов создания промышленных продуцентов биологически активных веществ, в частности, аминокислот. Это (1) классическая селекция с применением индуцированного мутагенеза, затем (2) направленная модификация специфических метаболических путей при помощи генно-инженерных манипуляций с хромосомой микроорганизма с привлечением достижений системной биологии, таких как «omics» технологии, создание искусственных метаболически регулируемых систем экспрессии, лабораторная адаптивная эволюция и т.д. И, наконец, (3) современный этап, связанный с развитием синтетической биологии, что дает возможность создавать в клетке новые метаболические пути, а также расширять круг используемых микроорганизмов и углеродных субстратов для микробиологического производства. Это, в свою очередь, позволяет значительно расширить круг соединений, природных и неприродных, которые могут быть получены путем микробиологического синтеза. В настоящем докладе описывается использование указанных подходов для создания бактериальных штаммов – продуцентов L-аминокислот. Так, модификация ключевых ферментов биосинтеза производилась при помощи как традиционной селекции, так и сайт-направленного мутагенеза, с использованием данных структурной биологии и биоинформатики. Последующая работа включала внутривитальную амплификацию и модификацию уровня транскрипции целого ряда генов, имеющих отношение к биосинтезу конкретного целевого продукта. Для этого применялся набор генно-инженерных подходов, как общепринятых, так и специально адаптированных или вновь разработанных применительно к задачам конструирования бактериальных продуцентов. В их числе особо следует отметить методологии, основанные на использовании рекомбинационных систем бактериофагов, позволяющие осуществлять направленные прецизионные модификации хромосом промышленных микроорганизмов, включающие (1) изменение структурных и регуляторных областей биосинтетических генов, (2) инактивацию или ослабление экспрессии генов, контролирующих синтез нежелательных побочных продуктов, (3) введение гетерологичной ДНК, природной или *de novo* синтезированной, способствующей эффективной конверсии субстрата в целевую аминокислоту благодаря изменению субстратной или кофакторной специфичности соответствующих ферментов или отвечающей за реализацию новых метаболических путей, а также (4) оптимизацию экспрессии генов, существенных для экспорта аминокислот.

#### C7-98. МЕХАНИЗМЫ QUORUM SENSING У ПСИХРОФИЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ *ALIVIBRIO LOGEI*: СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ АКТИВНОСТИ БЕЛКОВ-РЕГУЛЯТОРОВ *LUXR1* И *LUXR2*

**Хрульнова С.А.**\*, **Марышев И.В.**, **Манухов И.В.**, **Горянин И.И.**, **Васильева А.**, **Салихова А.**, **Завильгельский Г.Б.**

ФГУП Государственный НИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов (Москва), Россия

\*e-mail: khurulnovas@mail.ru

Психрофильные бактерии вида *A. logei* в определенной степени, уникальны, так как помимо основных свойств, характерных для психрофилов, они содержат в своем геноме гены *lux*-оперона, определяющие способность бактерий люминесцировать, причем, регуляция экспрессии *lux*-генов определяется особой системой типа “Quorum Sensing” (QS). Настоящее исследование проведено с использованием штаммов *A. logei*, изолированных из акватории Охотского, Берингово и Белого морей. Нами показано, что структура *lux*-оперона психрофильных бактерий вида *A. logei* значительно отличаются от структуры *lux*-оперона мезофильных бактерий вида *A. fischeri*. Принципиальным отличием является наличие в структуре *lux*-оперона *A. logei* двух копий регуляторного гена *luxR*: *luxR1* и *luxR2*, в то время как у мезофильных бактерий в *lux*-опероне содержится только одна копия гена *luxR*. Нами проведен анализ сравнительной активности белков LuxR1 и LuxR2, а также белка LuxR *A. fischeri*. Показано, что активность белка LuxR2 *A. logei* (по взаимодействию с молекулой аутоиндуктора (АИ) и по способности активировать экспрессию *lux*-генов) практически идентична активности белка LuxR *A. fischeri*. Белок LuxR1 *A. logei* характеризуется значительно более низкой активностью: для проявления активности необходимо увеличивать концентрацию АИ примерно в 100 раз по сравнению с таковой для LuxR2. Показано также, что LuxR2 *A. logei* как и LuxR *A. fischeri* является мишенью для *lon*-протеазы, однако в отличие от LuxR *A. fischeri* LuxR2 *A. logei* характеризуется повышенной термочувствительностью. Предполагается, что наличие двух регуляторных генов *luxR1*, *luxR2* у психрофильных бактерий *A. logei* обеспечивает бактериям повышенную способность индуцировать экспрессию *lux*-генов и соответственно усиливать биолюминесценцию при низкой температуре окружающей среды, компенсируя тем самым пониженную эффективность РНК-полимеразы.

#### C7-99. ВЛИЯНИЕ МОДИФИКАЦИЙ С-КОНЦА РЕКОМБИНАНТНЫХ ИНТЕРФЕРОНОВ-ГАММА НА ИХ СТАБИЛЬНОСТЬ И БИОЛОГИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ

**Цыганков М.А.**\*, **Зобнина А.Е.**, **Падкина М.В.**

Санкт-Петербургский государственный университет

(Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: gene.arch@yandex.ru

Использование интерферонов (ИФН) для лечения заболеваний различной этиологии имеет существенные преимущества по сравнению с традиционными антибиотиками и химиотерапевтическими препаратами за счет широкого спектра действия, обусловленного активацией иммунной системы, и из-за отсутствия побочных эффектов. Кроме того, использование антибиотиков в терапии бактериальных инфекций у животных, имеющих пищевую ценность, может привести к появлению в пищевой цепи устойчивых к лекарственным препаратам микроорганизмов. Иммунные ИФН (ИФН-γ) птиц и млекопитающих повышают бактерицидную и фунгицидную активность макрофагов и являются эффективными препаратами для лечения различных заболеваний животных. Ранее гены бычьего и куриного ИФН-γ были клонированы в составе векторов, обеспечивающих продукцию рекомбинантного белка клетками дрожжей *Pichia pastoris* и секрецию синтезированного белка в культуральную жидкость. Однако результаты опытов показали, что ИФН-γ подвержен существенной протеолитической деградации, обусловленной наличием нескольких потенциальных

сайтов узнавания протеазами, два из которых расположены на С-конце. В целях повышения стабильности рекомбинантных белков нами получены модифицированные гены бычьего и куриного ИФН- $\gamma$ , кодирующие соответствующие белки, лишённые потенциальных сайтов расщепления протеазами. Гены проклонированы под контролем промотора и терминатора гена алкогольоксидазы 1 дрожжей *P. pastoris* (АОХ1), что позволяет регулировать экспрессию гена источником углерода. Созданы штаммы дрожжей *P. pastoris* – продуценты укороченных форм бычьего и куриного ИФН- $\gamma$ . Показано, что рекомбинантные белки с привнесёнными модификациями обладают повышенной стабильностью, связанной с большей устойчивостью к действию протеаз, и при этом сохраняют биологическую активность. Высокий выход рекомбинантного белка, обусловленный использованием сильного промотора, а также то, что модифицированные белки не теряют биологической активности, делает созданные нами штаммы выгодными продуцентами бычьего и куриного ИФН- $\gamma$ .

#### **С7-100. ПРОГНОЗ СИСТЕМНОГО БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ СОЕДИНЕНИЙ НА ОСНОВЕ**

#### **ЭКСПРЕСС-ТЕСТОВ НА БАКТЕРИАЛЬНЫХ БИОСЕНСОРАХ**

**Празднова Е.В.**\*, **Демьяненко С.В.**, **Чистяков В.А.**,  
**Шкурят М.А.**

НИИ биологии Южного федерального университета

(Ростов-на-Дону), Россия

e-mail: ldsz@rambler.ru

За последние десятилетия взгляды на окислительный стресс претерпели значительные изменения – все чаще он рассматривается не столько как биохимический феномен, сколько как явление системного дисбаланса, за счет которого реализуются воспалительные процессы, старение и связанные с ним патологические явления. Противовоспалительные и геропротекторные эффекты многих соединений основаны на их антиоксидантной активности, поэтому поиск новых фармакологических препаратов системного адаптогенного действия целесообразно проводить среди антиоксидантов. Мы предположили возможность прогнозирования системных эффектов соединений по результатам экспресс-скрининга на антиоксидантную и антигенотоксическую активности с применением системы бактериальных LUX-биосенсоров. У соединений с высокой адаптогенной активностью, регистрируемой на животных, как правило, обнаруживаются протекторные свойства и в экспресс-тестах. Поэтому при помощи LUX-биосенсоров был исследован ряд соединений, для которых отсутствуют литературные данные об адаптогенной, геропротекторной или противовоспалительной активности, однако же, их молекулярная структура дает основания предполагать наличие антиоксидантных свойств. Были исследованы соединения из ряда экранированных фенолов - 4(3',5'-дитретбутил-4'-гидроксибензил) тиобутилтрифенил-фосфоний бромид и 3-бис(3',5'-дитретбутил-4'-гидроксибензил) амино-пропилтриметиламмоний иодид, а также каротиноидная фракция радиорезистентной бактерии *Deinococcus radiodurans* (штамм ВКПМ В-8209), основным компонентом которой является деиноксантин. Были использованы штаммы *E. coli* MG1655 pRecA-lux (детектор поврежденной ДНК) и *E. coli* MG1655 pKatG-lux (детектор перекиси водорода), а также ряд химических и физических индукторов окислительного стресса. По результатам экспресс-скрининга все три образца продемонстрировали антиоксидантную и ДНК-протекторную активность, однако наиболее эффективным соединением были признаны каротиноиды *D. radiodurans*. В последующих опытах было изучено влияние экстракта каротиноидов *D. radiodurans* на динамику заживления кожно-мышечной раны у мышей со стрептозоциновым сахарным диабетом I типа. Была

обнаружена стимуляция заживления ран как при наружном, так и при сочетанном (наружном и пероральном) введении каротиноидов (скорость заживления на 21,3 % выше по сравнению с контролем), а также снижение уровня окислительной модификации белков в сыворотке крови животных на 31,6 % при сочетанном введении. Таким образом, гипотеза о возможности прогнозирования системной биологической активности веществ на основании результатов экспресс-тестов на антигенотоксическую и антиоксидантную активности экспериментально подтверждена. Эффект каротиноидного препарата *D. radiodurans*, по-видимому, обусловлен его способностью снижать степень повреждения ДНК в тканях, сроки и интенсивность воспалительного процесса. В результате ускоряется подготовка ложа раны к фазам регенерации и эпителизации.

#### **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ АПОМИКСИС У РАСТЕНИЙ**

**Тырнов В.С.**\*, **Смолякина Ю.В.**, **Демихова Д.С.**

ФГБОУ ВПО Саратовский государственный университет

им. Н.Г. Чернышевского (Саратов), Россия

\*e-mail: tyrnovvs@info.sgu.ru

Выявлена встечаемость у растений индуцированных и наследуемых форм партеногенеза. Изучены их цитозембриологические предпосылки и генетические закономерности. Создана соответствующая коллекция генетически маркированных линий кукурузы. Для этой культуры разработаны технологии, удовлетворяющие требованиям практической селекционной работы. На основе партеногенеза, обусловленного одинарным оплодотворением (при использовании специальных линий партеноиндукторов) возможно получение редуцированных матроклинных апомиктов (гаплоидов) с частотами до 10-12 % и гомозиготных диплоидов с частотами около 0,5 - 1,0 %. При наследуемом (генетически обусловленном) партеногенезе частоты возникновения редуцированных апомиктов могут достигать 100% и даже больше (за счёт возникновения близнецов - двоен и троен). Поскольку возникновение гаплоидов в производственных посевах нежелательно, поэтому нами отработываются методы не повышения уровня гаплоидии, а наоборот, его понижения. Найден ряд подходов для решения этой проблемы. Однако большие перспективы вероятно связаны с синтезом диплоидных или полиплоидных апомиктичных форм. Нами было показано, что при использовании коллицинированных тетраплоидов, диплоидные апомикты возникают с высокой частотой. Поэтому, кажется вполне вероятным и целесообразным путь экспериментального создания нередуцированных апомиктов при использовании имеющихся партеногенетических линий и дополнительного введения в них генетических факторов апомейоза. Нами также показана связь партеногенеза и андрогенеза in vivo. На этой основе созданы линии индукторы как партеногенеза, так и андрогенеза. Поэтому в рамках единой системы и материала возможно создание линий, перевод их на другие цитоплазмы, в том числе с ЦМС, и закрепление признаков путём нередуцированного апомиксиса.

#### **M7-02. ПОЛИМОРФИЗМ ЗАПАСНЫХ БЕЛКОВ У СОВРЕМЕННЫХ СОРТОВ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ, ВОЗДЕЛЫВАЕМЫХ НА ТЕРРИТОРИИ РФ**

**Болдырев С.В.**\*, **Лялина Е.В.**, **Поморцев А.А.**

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

\*e-mail: beibaraban34@gmail.com

У ячменя подходящими маркерами для идентификации сортов являются запасные спирторастворимые белки зерновки – гордеины. Установлено, что гордеины контролируются семью

сцеплено наследуемыми локусами: *Hrd A*, *Hrd B*, *Hrd F*, *Hrd C*, *Hrd D*, *Hrd E* и *Hrd G*, расположенными на хромосоме 1Н ячменя. При изучении мировой коллекции (1667 сортов) по трем локусам гордеинов обнаружено более 400 различных аллелей, составлены каталоги аллельных вариантов полиморфных локусов. К настоящему времени определен аллельный состав практически всех сортов ярового ячменя допущенных к использованию на территории РФ. По локусу *Hrd A* у современных сортов обнаружено 16 вариантов аллелей, по локусу *Hrd B* – 22 варианта, по локусу *Hrd F* – 4 варианта. В 2013 было зарегистрировано 176 сортов ярового ячменя. Однако, несмотря на большой полиморфизм гордеинов, часть современных сортов ячменя имеют идентичные электрофоретические спектры. Это обусловлено сужением генетического разнообразия ячменя в связи с селекционной деятельностью. Примером сортов с идентичными спектрами могут быть сорта Скарлетт и Ксанаду, МИК-1 и Владимир, Сокол и Ястреб. К настоящему времени с помощью методики электрофореза гордеинов в крахмальном геле удается дифференцировать около 80% эталонных образцов современных сортов ярового ячменя, допущенных к использованию на территории РФ. Для решения этой проблемы нами было предложено привлечение другой маркерной системы. Наиболее удобными, дешевыми и пригодными для массовых анализов оказались легкорастворимые белки (водорастворимые белки или общий белок - WSPs (water-soluble proteins)) – это группа белков, состоящая из альбуминов и глобулинов, представленная в созревшем эндосперме зерна ячменя. Легкорастворимые белки контролируются 4 локусами (*Slp A*, *Slp B*, *Slp C*, *Slp D*). На данный момент по локусу *Slp A* у современных сортов обнаружено 3 варианта, по локусу *Slp B* – 3 варианта, по локусу *Slp C* – 2 варианта, по локусу *Slp D* – 3 варианта. С помощью электрофореза растворимых белков в ПААГ удалось дифференцировать некоторые группы сортов, которые неотличимы по гордеинам.

#### М7-03. АГРОБАКТЕРИАЛЬНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ СОРГО И ПОЛУЧЕНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ С УЛУЧШЕННОЙ ПЕРЕВАРИВАЕМОСТЬЮ ЗАПАСНЫХ БЕЛКОВ

Эльконин Л.А.<sup>1</sup>, Баранкова И.В.<sup>\*1</sup>, Итальянская Ю.В.<sup>1</sup>, Носова О.Н.<sup>1</sup>, Ракитин А.Л.<sup>2</sup>, Равин Н.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГНУ Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Юго-Востока Россельхозакадемии (Саратов), Россия;

<sup>2</sup>Центр «Биоинженерия» РАН (Москва), Россия

\*e-mail: barankova.i1990@yandex.ru

Одним из наиболее перспективных направлений использования генной инженерии является создание трансгенных растений с измененным составом запасных белков эндосперма. Для решения этих задач активно используются технологии РНК-интерференции, позволяющие «выключать» экспрессию отдельных генов. Нами в течение ряда лет разрабатывались различные подходы для агробактериальной трансформации растений зернового сорго, основанные на использовании методов культуры *in vitro*, или инокуляции цветущих изолированных метелок в условиях *in planta*. С использованием штамма *A. tumefaciens* AGL0/p35SGIB, несущего в составе T-ДНК маркерный ген *bar*, у линий Желтозерное 10 (Ж10) и КВВ-45 были получены трансгенные растения. При этом частота незрелых зародышей, продуцировавших каллусы, из которых были регенерированы ПЦР-положительные растения, составляла 6.6-9.1%. Важнейшими факторами, повышающими частоту регенерации трансгенных растений, являются условия выращивания агробактериальной суспензии перед инокуляцией, а также приемы, усиливающие эмбриогенные потенции культивируемых тканей.

ПЦР-анализ показал наследование гена *bar* в самоопыленном потомстве трансгенных растений, при этом экспрессия носила, как правило, рецессивный характер. Разработанные методы были использованы для получения трансгенных растений, несущих генетическую конструкцию, способную к индукции РНК-сайленсинга гена гамма-кафирина. Этот белок, располагающийся по периферии белковых телец клеток эндосперма, отличается устойчивостью к протеолитическому расщеплению и снижает питательную ценность зерна сорго. У линии Ж10 получены трансгенные растения, несущие эту конструкцию. У одного из растений в поколении T1 обнаружены зерновки с измененным спектром запасных белков и структурой эндосперма, в котором происходила редукция стекловидного слоя, замещавшегося мучнистым. SDS-электрофорез показал, что зерновки трансгенных растений с модифицированным типом эндосперма имели отличия в спектре запасных белков, по сравнению с исходной нетрансгенной линией. Большая часть различающихся полипептидов располагалась в области димеров и олигомеров, что свидетельствует о нарушении полимеризации кафиринов. Изучение перевариваемости белков эндосперма пепсином *in vitro* показало, что количество непереваренного белка в муке, полученной из зерновок одного из трансгенных растений поколения T1, снизилось в 2,5 раза, по сравнению с исходной (нетрансгенной) линией сорго, при этом перевариваемость достигла высокого показателя: 85.4%, тогда как у исходной линии она составляла 61.0%. Работа поддержана РФФИ, гранты 10-04-00475, 13-04-01404.

#### М7-04. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛУННИКА

Бойкая Е.А.<sup>\*</sup>, Лях В.А.

Запорожский национальный университет (Запорожье), Украина

\*e-mail: malaja24@gmail.com

Генетика лунника изучена крайне мало, хотя эта культура привлекает большое внимание исследователей. Лунник – перспективное сельскохозяйственное растение, с высоким содержанием нервновожистой кислоты в масле. Оно используемое и как декоративное. Существуют два вида лунника - однолетний *Lunaria annua* и многолетний *Lunaria rediviva*. В Запорожском национальном университете были получены межвидовые гибриды, и проводится изучение генетики этой культуры. У полученных межвидовых гибридов выявлен эффект гетерозиса по признакам длины и ширины листовой пластинки. Из популяций, полученных в результате межвидовых скрещиваний, выделены перспективные образцы, два из которых переданы в Центр генетических ресурсов Украины для прохождения процедуры регистрации. При изучении генетики лунника было установлено полное доминирование многолетнего типа развития растений над однолетним. В изученных популяциях F<sub>2</sub> наблюдалось расщепление, соответствующее модели 3:1. Вместе с тем, при изучении наследования этого признака в реципрокных скрещиваниях получены данные, свидетельствующие о наличии цитоплазматического эффекта в определении биологии развития растений. В популяциях, имеющих в качестве материнского компонента однолетний вид лунника, среди многолетних растений появились такие, которые зацветали значительно раньше них. При исследовании генетики отдельных признаков установлено рецессивное моногенное наследование признаков “белая окраска венчика”, а также “светлое подсемядольное колено”. Последний оказался сцепленным с признаком «белая окраска венчика» и может быть использован в качестве маркерного для выявления белоцветковых растений еще на стадии семян. Этот признак характеризуется тем, что подсемядольное колено лишено антоциановой окраски и хорошо отличается визуально. При анализе пяти расщепляющихся гибридных популяций



было обследовано 136 растений, из которых 39 имели светлое подсемядольное колено, что соответствует модели расщепления 3:1. Достоверность этой гипотезы подтверждается расчетным значением  $\chi^2$ , равным 0,99. Все растения со светлым подсемядольным коленом в дальнейшем оказались белоцветковыми. Полученные гибридные популяции были проанализированы по ряду морфологических признаков для определения вклада каждого родительского компонента в фенотип потомков и выявления маркерных признаков для дальнейшей селекционной работы с этой культурой. В настоящее время проводится отбор и создание линий на основе образцов, отобранных из полученных гибридных популяций, а также дальнейшее изучение генетики качественных и количественных признаков лунника.

#### **M7-07. ГАМЕТОФИТНЫЙ ОТБОР НА ЖАРСТОЙКОСТЬ У ПОДСОЛНЕЧНИКА КУЛЬТУРНОГО**

**Тоцкий И.В. \*, Лях В.А.**

*ВГУЗ Запорожский национальный университет МОНУ (Запорожье), Украина*

\*e-mail: igor.totsky@gmail.com

Создание современных потенциально высокоурожайных сортов и гибридов растений, способных противостоять стрессовым факторам, обычно ведется на стадии их вегетации традиционными методами. В результате проведения экспериментов разными группами исследователей было установлено, что большая часть структурных генов, которые экспрессируются в пыльце, экспрессируются также и в спорофите. На этом основании было высказано предположение о том, что отбор микрогаметофитов, устойчивых к какому-нибудь экстремальному фактору среды, может обеспечить появление спорофитов со сходной устойчивостью. Это предположение подтвердилось экспериментальными исследованиями на ряде культур. Целью данной работы являлось выяснение эффективности гаметофитного отбора на жаростойкость у подсолнечника. Для проведения гаметофитного отбора использовали гибриды  $F_1$ , родительские линии которых были контрастными по жаростойкости. Исследование проводилось на гибридах следующих комбинаций скрещиваний «virescent» Ч «xantha», «дихотомическое жилкование» Ч «обожженный лист», «дихотомическое жилкование» Ч «xantha». Гаметофитный отбор проводили путем прогревания пыльцы гибридов  $F_1$  в двух экспозициях (60°C - 1 и 3 часа) в термостате, с последующим опылением прогретой пыльцой гибридных растений. Оценку популяций  $F_2$  на жаростойкость осуществляли по всхожести в полевых условиях после прогревания семян в течение 15 минут при температуре 60°C. В результате прогревания семян как контрольной, так и опытных популяций  $F_2$  наблюдалось существенное уменьшение их всхожести по сравнению с необработанными высокой температурой семенами. Это связано с тем, что при температурной обработке выживали лишь наиболее жаростойкие генотипы, а их частота в популяции  $F_2$  достаточно мала. Однако при сравнении всхожести прогретых семян контрольной популяции и популяций, полученных с использованием гаметофитного отбора, всхожесть последних была значительно выше. В комбинации скрещивания «дихотомическое жилкование» Ч «обожженный лист» в отличие от других гибридов прогревание пыльцы в течение 1 часа не было эффективным. Из этого можно сделать вывод, что гаметофитный отбор увеличивает жаростойкость растений популяции  $F_2$ , однако режим обработки необходимо подбирать для каждого скрещивания индивидуально. Следует отметить, что даже без прогревания семян их всхожесть в случае пыльцевого отбора была значительно выше, чем без его проведения, что указывает на увеличение адаптационных способностей соответствующих популяций  $F_2$ .

#### **M7-08. ФОРМИРОВАНИЕ ЖЕНСКОГО ГАМЕТОФИТА У НЕКОТОРЫХ ТЕТРАПЛОИДНЫХ ФОРМ ЯБЛОНИ**

**Горбачева Н.Г. \*, Седышева Г.А.**

*ГНУ ВНИИ селекции плодовых культур (Орел), Россия*

\*e-mail: gorbachevanata81@yandex.ru

Приводится цитоэмбриологическая характеристика развития женского гаметофита у некоторых тетраплоидных форм яблони, используемых в качестве исходных в селекции на полиплоидном уровне. Изучение эмбриональных структур женской генеративной сферы тетраплоидных форм яблони 25-37-47, 30-47-88, Мелба (4x) показало, что схема развития женского гаметофита у них примерно одинакова. Весной формируются анатропные с овальным нуцеллусом и двумя интегументами семязпочки. В нуцеллусе закладывается материнская клетка макроспор, в дальнейшем развивается тетрада, а затем зародышевый мешок: вначале двух-, далее четырех-, и наконец восьмиядерный. Археспорий многоклеточный. Тетрады могут быть с линейным, Т-образным и квадратным расположением макроспор. У форм 30-47-88 и 25-37-45 преобладают линейные тетрады - 42,8% и 63,1%, а у сорта Мелба (4x) квадратные и Т-образные (80%). Некоторые семязпочки имели по две или три тетрады макроспор. Были отмечены единичные случаи формирования двух зародышевых мешков в одном нуцеллусе у сорта Мелба (4x) и формы 30-47-88. Когда начинает развиваться зародышевый мешок активность клеток дополнительных тетрад и археспория постепенно затухает и они подвергаются деструкции. Строение зародышевого мешка в большинстве случаев нормальное, типичное для представителей Rosaceae. Зрелый зародышевый мешок содержит яйцеклетку, две синергиды, два полярных ядра, три клетки антиподы. Некоторые нарушения в период формирования зародышевого мешка наблюдали у всех тетраплоидов яблони: наличие дополнительных тетрад, дифференциация всех клеток яйцевого аппарата или антипод по типу синергид, присутствие сверхчисленных ядер в зародышевом мешке. Минимальный уровень аномальных зародышевых мешков (21,9%) и семязпочек (2,9%) у формы 25-37-47. У сорта Мелба (4x) процент зародышевых мешков с отклонениями чуть больше (26%), аномальных семязпочек отмечено не было. Наибольшее количество отклонений у формы 30-47-88 - 27,8% аномальных зародышевых мешков и 21,5% аномальных семязпочек (сложные семязпочки, сидячие семязпочки, семязпочки с одним интегументом). Перечисленные аномалии женского гаметофита у тетраплоидных форм яблони в большинстве случаев не препятствуют осуществлению двойного оплодотворения, а лишь подчеркивают их сортоспецифичность. Подтверждение этому - высокий процент триплоидов в их потомстве (в семье Мелба (4x) x Строевское (2x) выход триплоидов составил 100%). Таким образом, данные, полученные при изучении женской генеративной структуры у тетраплоидных форм яблони, позволяют сделать вывод о пригодности их для использования в интервалентных скрещиваниях в качестве материнских форм.

#### **M7-09. ДОСТИЖЕНИЯ В СЕЛЕКЦИИ КОЛОННОВИДНЫХ СОРТОВ ЯБЛОНИ ВО ВНИИСПК.**

**Корнеева С.А. \*, Седов Е.Н., Серова З.М.**

*ГНУ Всероссийский НИИ селекции плодовых культур (Орел), Россия*

\*e-mail: ksv81\_57@bk.ru

Понятие колонновидная форма кроны вошло в селекцию яблони с 1964 года. Этот тип роста контролируется главным геном *Co*. Признак колонновидного габитуса кроны можно сочетать в одном генотипе с генами иммунитета к парше, мучнистой росе, зимостойкости, высокими качествами плодов и крупноплодностью. Это открывает широкое поле деятельности для селек-

ционер. К сожалению, в настоящее время еще не сформирован достаточный сортимент колонновидных яблонь, который может успешно конкурировать, по качеству плодов с обычными сортами – лидерам мирового сортимента. В связи с этим во ВНИИСПК с 1984 года ведется целенаправленная селекционная работа по созданию новых колонновидных сортов. За весь период (1984-2012 гг.) опылено по 110 комбинациям скрещивания 131,8 тыс. цветков, получено 60,3 тыс. нормально – развитых семян, выращено 30,1 тыс. однолетних сеянцев, в селекционный сад перенесено 2092 сеянца, из них выделено 8 сортов: Созвездие, Восторг, Гирлянда, Есения, Приокское, Поэзия, Зеленый шум, Памяти Бlynского. Все сорта являются иммунными к парше (в их генотипе присутствует ген *Vf*) и обладают комплексом хозяйственно-ценных признаков. Изучение агробиологических особенностей новых колонновидных сортов яблони селекции ВНИИСПК проводилось в садах различного типа. В стандартном для колонновидных сортов сверхплотном саду на отводочном карликовом подвое 62-396. Опыт заложен в 2009 году, деревья размещены блоками по восемь рядов, расстояние между рядами – 1,0 м, между деревьями в ряду – 0,5 м. Блоки разделяются технологическими проходами шириной 3,0 м. Плотность посадки составляет 14 тыс. растений на 1 га. На зимостойкой полукарликовой вставке 3-4-98 с размещением деревьев 3,0 м x 1,0 м (3333 деревьев на 1 га) и в кроне зимостойкого полукарликового подвоя 3-4-98 с размещением деревьев 3,0 м x 2,0 м, 3,0 м x 1,5 м и 3,0 м x 1,0 м (1667, 2222 и 3333 дер./га, соответственно). По комплексу хозяйственно-ценных признаков выделены сорта Приокское, Поэзия, Восторг. По данным первичного изучения сорта Поэзия и Восторг в переданы на государственное испытание по Центральному и Центральнo-черноземному регионам, сорт Приокское предложен в Государственный реестр селекционных достижений допущенных к использованию.

#### **М7-10. ПРИМЕНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ В СЕЛЕКЦИИ ПШЕНИЦЫ МЯГКОЙ ЯРОВОЙ**

*Пискарев В.В. \*, Бойко Н.И., Тимофеев А.А.*

*ГНУ СибНИИРС Россельхозакадемии (Новосибирск), Россия*

\*e-mail: piskaryov\_v@mail.ru

Проводя отбор ценных растений пшеницы мягкой яровой из гибридной популяции по количественным признакам, селекционер исходит в основном из возможности идентифицировать их по фенотипу растения. Но эффективность отборов по фенотипу не высокая из-за недостаточности знания истинного соотношения генотипической и модификационной изменчивости учитываемых признаков и закономерностей их проявления. Селекционеру важно знать, как наследуются те или иные признаки, какими генетическими особенностями обладают формы, используемые им в качестве исходного материала. Данные о генетической системе контроля количественных признаков и наличии генов с положительными эффектами в исходном материале селекционер может использовать при подборе родительских форм для скрещивания, с целью увеличения того или иного показателя у рекомбинантов, отбираемых в гибридных популяциях. Довольно полную информацию об изменчивости количественных признаков и их генетическом контроле у сортов самоопыляющихся культур можно получить, используя метод диаллельных скрещиваний, который позволяет по результатам анализа относительно небольшого числа растений первого поколения получить информацию о генетической системе, контролирующей изучаемый признак у исходных родительских форм. Кроме того, для определения тактики отбора по количественным признакам в расщепляющихся поколениях важно

знать хотя бы примерное количество генов, контролирующих признак и характер генетических различий между родительскими формами. Одним из возможных способов определения таких различий является анализ гибридов первого расщепляющегося поколения и сравнение выраженности количественных признаков у них и их родительских форм. Когда количественный признак хорошо изучен генетически, селекционеру нет необходимости детального анализа каждого скрещивания, а достаточно представлять, из чего складывается вариационный ряд  $F_2$ , чтобы проводить результативные отборы, корректируя их по данным оценки  $F_3$ . Изучив генетический контроль отдельных признаков, легче их «переносить» в создаваемые сорта со сложным комплексом признаков. Результатом проведенных нами исследований является создание ценных линий пшеницы мягкой яровой, отобранных по результатам проведенного анализа генетического контроля количественных признаков. Линиям дана оценка на всех этапах селекционного процесса, в том числе линии изучены в конкурсном сортоиспытании. Созданные линии характеризуются высокой выраженностью изученных хозяйственно-ценных количественных признаков.

#### **М7-11. КРИОСОХРАНЕНИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТАБИЛЬНОСТЬ РАСТИТЕЛЬНЫХ ОБЪЕКТОВ С РАЗЛИЧНЫМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ**

*Соловьева А.И. \*, Высоцкая О.Н., Долгих Ю.И.*

*Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН*

\*e-mail: slvjova.aleksandra@rambler.ru

Среди инструментов, направленных на сохранение биологического разнообразия, огромную роль играет замораживание растительного материала при температуре жидкого азота, оно позволяет снизить до минимума потерю ценных образцов и сократить материальные затраты на поддержание коллекций. Криосохранение – сложная, многостадийная процедура, включающая подготовку объекта, различные варианты его дегидратации, замораживание в жидком азоте и восстановление тканей, в ходе которых клетки испытывают стресс и в результате могут возникать генетические отклонения. На данный момент разработан и успешно применяется целый ряд методов криосохранения растительных объектов. В последние 15 лет при криосохранении тканей и органов растений все чаще применяются протоколы, несвязанные с использованием дорогостоящего и сложного в обслуживании программного оборудования, в частности, набирает популярность метод дегидратации, поскольку он прост и позволяет исключить инкубирование клеток в растворах токсичных криопротекторов. Мы провели оценку влияния криосохранения по протоколу дегидратации на стабильность растительных объектов, обладающих различными характеристиками. В результате было выявлено, что в процессе криосохранения генетически однородного каллусного материала могут возникать изменения последовательности ДНК с незначительной частотой, которые наиболее вероятно связаны со стрессом, испытываемым клетками во время дегидратации. Регенеранты, восстановленные из каллусов, подвергавшихся криосохранению, не имели каких-либо отклонений. При криосохранении исходно различающегося растительного материала происходило снижение доли полиморфных ДНК-маркеров. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-04-31615.

#### **М7-12. УСТОЙЧИВОСТЬ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ ЯЧМЕНЯ ИЗ ДАГЕСТАНА К ВРЕДНЫМ ОРГАНИЗМАМ**

*Абдуллаев Р.А. \*,<sup>1</sup>, Баташева Б.А. <sup>2</sup>, Коновалова Г.С. <sup>1</sup>, Хохлова А.П. <sup>1</sup>, Радченко Е.Е. <sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Всероссийский НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Дагестанская опытная станция Всероссийского НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (Дербент), Россия

\*e-mail: abdullaev.1988@list.ru

В 2012–2013 гг. на Дагестанской опытной станции ВИР (г. Дербент) и в лабораторных условиях изучали устойчивость ячменей из Дагестана к семи вредным организмам. Наблюдали эпифитотийный уровень развития мучнистой росы (возбудитель – *Blumeria graminis* (DC.) Golovin ex Speer f. sp. *hordei* Em. Marchal) и карликовой ржавчины (*Puccinia hordei* Otth). Среди 265 изученных образцов 5 обладали устойчивостью к мучнистой росе (к-23787, к-25615, к-28211, к-28212, к-30781) и 6 – к карликовой ржавчине (к-10469, к-10471, к-13233, к-17436, к-17439, к-30781). На фоне искусственного заражения исследовали устойчивость 194 местных образцов ячменя к каменной головне (возбудитель – *Ustilago hordei* (Pers.) Kell. Et Swing) и 88 образцов – к пыльной головне (*U. nuda* (Jens) Kell. Et Swing). Не поразились *U. hordei* колосья 46 образцов (поражение контрольных сортов – до 47%); к пыльной головне наиболее устойчив образец к-23830 (7% пораженных растений при 100% поражении восприимчивого контроля). В результате лабораторных и полевых исследований 254 образцов отобрали 7 гетерогенных по устойчивости к ринхоспориозу (возбудитель – *Rhynchosporium secalis* (Oud.) образцов: к-14894, к-15181, к-15184, к-23826, к-23821, к-26297, к-17436. Почти изогенные линии, несущие гены устойчивости *Rrs1* – *Rrs8*, *Rrs10* – *Rrs15* были неустойчивы к грибу; на линии с геном *Rrs9* симптомы болезни не выявлены. Очевидно, устойчивые компоненты выявленных нами местных форм ячменя защищены генами, отличающимися от *Rrs1* – *Rrs8* и *Rrs10* – *Rrs15*. Изучили устойчивость 226 образцов ячменя к шведской мухе (*Oscinella frit* L.). При озимом посеве оценивали вызванную питанием вредителя череззерницу и выявили слабо поврежденные (череззерница 5,3% – 7,5%) образцы к-13988, к-1028, к-13233, к-13234, к-13991, к-15182, к-23830. При яровом посеве слабо повреждались стебли образцов к-12214, к-13113, к-13502, к-14145, к-23830. В лабораторных условиях изучили устойчивость 226 образцов к обыкновенной злаковой тле (*Schizaphis graminum* Rondani). Выделили 40 гетерогенных форм со слабым проявлением устойчивых компонентов. Образец к-21754 характеризовался более высоким уровнем устойчивости к фитофагу. Показали, что и главные, и слабоэкспрессирующиеся гены устойчивости ячменя дифференциально взаимодействуют с генотипами обыкновенной злаковой тли.

Работа поддержана РФФИ (грант № 12-04-96503-р\_юг\_a).

#### M7-13. СОЗДАНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ *NICOTIANA TABACUM* L., СИНТЕЗИРУЮЩИХ БЫЧИЙ ГАММА-ИНТЕРФЕРОН

**Бурлаковский М.С.** \*, **Савельева Н.В.**, **Емельянов В.В.**, **Лутова Л.А.**

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

\*e-mail: burmish@yandex.ru

Интерфероны – гликопротеины семейства цитокинов, продуцируемые большинством эукариотических клеток под воздействием индукторов, в частности вирусной природы, и играющие важную роль в организации иммунного ответа. Воздействуя на клетки организма, эти вещества предупреждают развитие опухолевых процессов, а также активируют ряд метаболических путей для подавления репликации вирусов. Широкий спектр действия делает возможным создание на основе интерферонов лекарственных средств, сочетающих иммуномодулирующие, противоопухоле-

вые и противовирусные свойства. К тому же, в отличие от антибиотиков, интерфероны не угнетают иммунную систему и при попадании в природу не способствуют возникновению резистентных штаммов микроорганизмов. Пригодный для фармакологического применения гамма-интерферон возможно выделить из лейкоцитов донорской крови, однако этот способ, помимо сложности и высокой цены, несет высокую вероятность переноса заболеваний. Успехи генной инженерии позволили нарабатывать рекомбинантный интерферон в трансгенных микроорганизмах-продуцентах. Перспективным направлением биотехнологии является создание растений-продуцентов гамма-интерферона. Их культивирование не требует дорогостоящего оборудования, а сельскохозяйственные масштабы продукции гарантируют доступность рекомбинантного препарата в количествах, достаточных для клинических испытаний и широкого терапевтического использования. Целью данной работы является получение сорта растений-продуцентов бычьего гамма-интерферона для животноводства. В соответствии с этим в работе была поставлена задача получения линий трансгенных растений табака (*Nicotiana tabacum* L.) – продуцентов гамма-интерферона, характеризующихся стабильным наследованием гена гамма-интерферона (*IFNG*), высоким уровнем экспрессии гетерологичного гена и биологической активностью его белкового продукта. Ген *IFNG* был внедрен в растения методом агробактериальной трансформации. Путем самоопыления были получены пять поколений трансгенных растений, подвергавшихся селекции. На основании данных ПЦР и ОТ-ПЦР были отобраны линии наиболее эффективных растений-продуцентов гамма-интерферона, демонстрировавшие стабильное наследование активного гена *IFNG*. Наличие в этих растениях белка гамма-интерферона было подтверждено методом Вестерн-блот гибридизации. Противовирусная активность полученного белка была доказана в эксперименте на культуре клеток быка. Для оценки биологической безопасности продукт испытывался на животных (лабораторных мышках). В результате проведенной работы получена гомозиготная линия растений табака - продуцентов бычьего гамма-интерферона.

#### M7-14. УПРАВЛЕНИЕ МЕЙОТИЧЕСКОЙ РЕКОМБИНАЦИЕЙ У ГИБРИДОВ ТОМАТА С ПОМОЩЬЮ ЭКСПРЕССИИ ГЕТЕРОЛОГИЧНЫХ ГЕНОВ

**Комахин Р.А.** \*, **Милюкова Н.А.**, **Комахина В.В.**, **Креницына А.А.**, **Левина Т.А.**, **Жученко А.А.**

ГНУ ВНИИСБ Россельхозакадемии (Москва), Россия

\*e-mail: recombination@iab.ac.ru

Управление мейотической рекомбинацией (кроссинговером) при комбинативной селекции требуется для повышения эффективности получения новых нетрадиционных генотипов и направленного переноса хозяйственно-ценных генов из генома дикорастущих видов в хромосомы культурных растений. В мейозе кроссинговер реализуется двумя биохимическими путями, один из которых обусловлен интерференцией - Pathway1, а другой независим от нее - Pathway2, необходимыми как для стабильной сегрегации гомологов, так и для реципрокного обмена фрагментами между ними. Однако не ясно, какой путь кроссинговера отвечает за ту или иную функцию. Во второй хромосоме томата мы обнаружили два смежных участка, контрастно различающихся по стабильности частоты кроссинговера (rf) в них при гетерологичной экспрессии генов, белковые продукты которых участвуют в гомологичной рекомбинации. Rf между генами *Wv* и *D* составляла в норме около 26%, однако при экспрессии генов мейозо-специфичных эндонуклеаз *SPO11* из *S.cerevisiae* или *A.thaliana* она снижалась до 18-20%, а при экспрессии гена *recA E.coli*, наоборот, возрастала до 33-36%. Одновременно, экспрессия гена *SPO11 S. cerevisiae* снижала содержание рекомбинантов в потомстве гибридов томата, а экспрессия гена *recA E.coli*, наоборот, его увеличивала. Rf на смежном



участке *D-Aw* второй хромосомы составляла 45% и не изменялась при гетерологичной экспрессии различных генов, и даже сохранялась на этом уровне у межвидовых гибридов томатов, полученных с использованием дикорастущих видов *S. lycopersicum* var. *cerasiforme* и *S. cheesmaniae*. Колебания  $gf_{Wv-D}$  у гибридов томата при экспрессии гетерологичных генов и сопряженные изменения содержания рекомбинантов в их потомстве позволили предположить, что кроссинговер на участке *Wv-D* реализовывался интерферирующим путем Pathway1. Следовательно, этот путь, прежде всего, необходим для формирования генетической изменчивости в потомстве гибридов растений. Высокая стабильность  $gf$  между генами *D* и *Aw* предполагает, что данный участок второй хромосомы контролируется неинтерферирующим путем Pathway2, необходимым, вероятно, для гарантированного синапсиса гомологов. Таким образом, для повышения биологического разнообразия в потомстве гибридов культурного томата и интрогрессии генов из генома дикорастущих видов целесообразно воздействовать на Pathway1. Для стабилизации синапсиса гомологов у некоторых межродовых гибридов томатов с целью повышения их фертильности целесообразно разрабатывать экспериментальные подходы для воздействия на путь Pathway2. Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ №11-04-00873-а.

#### **М7-15. ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ СТАБИЛЬНОГО ГЕНОМА У ПШЕНИЧНО-РЖАНЫХ АМФИДИПЛОИДОВ**

Логинава Д.Б., Силкова О.Г.

*ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия*

\*e-mail: loginova@bionet.nsc.ru

Способность аллополиплоидного генома мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. ( $2n=6x=42$ , ВВААDD) выдерживать различные структурные модификации и элиминацию хромосом без губительного влияния на рост и фертильность растения предоставляет базу для экспериментов по хромосомной инженерии при межродовых скрещиваниях. Актуальным является передача в геном пшеницы хроматина ржи по многим хозяйственно-ценным признакам. Одним из источников чужеродных генов являются гомозиготные, со стабильным геномом, амфидиплоиды. Их использование позволяет провести реальную оценку функции чужеродных генов в генотипе пшеницы, амфидиплоиды являются также постоянным, долговременным источником для выявления и передачи новых признаков. Однако получение цитологически и генетически стабильных амфидиплоидов осложнено ядерно-цитоплазматическими конфликтами и неудачно подобранными генотипами родительских форм. Предполагается, что быстрая элиминация специфических последовательностей ДНК, как и структурные изменения хромосом, ускоряют цитологическую и генетическую диплоидизацию, тем самым содействуя диплоидному поведению хромосом в мейозе. Задачей данной работы являлось изучение цитогенетических механизмов формирования цитологически и генетически стабильных амфидиплоидов. Одним из способов получения амфидиплоидов является межродовая гибридизация с удвоением числа хромосом у потомства с помощью мейотической реституции. Нами показано, что пшенично-ржаные замещения 1Rv/1A, 5R/5A, 6R/6A детерминируют деление подобное митозу в мейозе  $F_1$  у гибридов 1Rv(1A)xR, 5R(5A)xR, 6R(6A)xR, что является способом получения гомозиготных амфидиплоидов. В метафазе I отсутствует спаривание хромосом (включая гомологов ржи), униваленты разделяются на сестринские хроматиды, локализация центромерного зонда pAct6-09 на хромосомах соответствует локализации зонда в митозе и метафазе II, что свидетельствует о биполярной ориентации центромерного района. Такая модификация первого деле-

ния вызывает отсутствие второго. При самоопылении гибридов  $F_1$  1Rv(1A)xR, 6R(6A)xR было получено потомство с октоплоидным геномом AABBDDRR. Проведенный анализ кариотипов гибридов  $F_2$  с использованием С-окрашивания и геномной *in situ* гибридизации показал наличие полного набора хромосом ржи. Растения с  $2n=56$  характеризовались хорошей озерненностью, число зерен у гибрида 6R(6A)xR составило 139, а масса 1000 зерен 52.3 гр.; у гибрида 1Rv(1A)xR число зерен с растения было 320, а масса 1000 зерен 26.4 гр. Согласно полученным данным, для получения амфидиплоидов целесообразно использовать пшенично-ржаные замещенные линии, детерминирующие митотическое деление в мейозе межродовых гибридов  $F_1$ .

#### **М7-16. РАСТЕНИЯ – ПРОДУЦЕНТЫ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ ДЛЯ ВЕТЕРИНАРИИ**

Емельянов В.В.\*, Бурлаковский М.С., Гусева О.В.,

Ткаченко А.А., Лутова Л.А.

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

\*e-mail: bootika@mail.ru

Современные методы биотехнологии позволяют использовать растения для получения организмов-продуцентов различных белков научного, ветеринарного и медицинского назначения. Растительные организмы автотрофны и не требуют дорогостоящих культиваторов для своего выращивания. Будучи эукариотами, они обеспечивают правильную сборку и пост-трансляционную обработку белков человека и животных. В отличие от микроорганизмов (бактерий и грибов), а также культур клеток животных, растительные продуценты лишены целого ряда токсинов, антигенов, прионов и вирусов, опасных для потребителей целевых белков – животных и человека. Все это обуславливает актуальность получения растений-продуцентов. В лаборатории генной и клеточной инженерии растений (кафедра генетики и биотехнологии СПбГУ) создана линия растений табака *Nicotiana tabacum* L., несущих гетерологичный ген, кодирующий иммуномодулятор гамма-интерферон быка под контролем конститутивного 35S CaMV промотора. Продемонстрированы стабильные наследование и экспрессия трансгенной вставки, а также присутствие в растительных тканях гетерологичного белка гамма-интерферона вплоть до пятого поколения трансгенных растений. Для синтезированного растениями табака бычьего гамма-интерферона подтверждена иммуномодулирующая и антивирусная активность в отношении лабораторных животных (мышей) и культуры клеток быка соответственно. Недостатком полученных растений-продуцентов табака является относительно низкое содержание целевого белка в тканях (до 1-1,5 мкг на 1 г сырой массы) несмотря на конститутивную экспрессию гетерологичной вставки. Кроме того, табак – ядовитое растение и целевой белок из него приходится очищать. Перспективным продолжением работ является создание продуцентов интерферонов животных (быка, курицы) на основе съедобных растений – бобовых (горох, люцерна) и моркови. Эти растения можно использовать, непосредственно добавляя их (вместе с содержащимся в них целевым белком) в пищу домашним животным, минуя дорогостоящий этап очистки. Более того, для этих растений можно использовать орган-специфичную экспрессию целевого гена под контролем специализированных промоторов, обеспечивающих аккумуляцию белкового продукта в семенах у бобовых растений или в корнеплодах моркови. Экспрессия целевых генов в тканях запасующих органов, где уровень биодegradации ниже, чем в активно вегетирующих тканях, способствует повышению выхода целевого продукта на 2-3 порядка. Необходимо отметить, что запасующие органы могут быть отличным резервуаром для хранения целевого белка, и одновременно удобной формой для

скармливания животным в качестве иммуно-модулирующей добавки. Исследования поддержаны программой развития СПбГУ (НИР 1.37.115.2011 и 1.39.1056.2012).

#### ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ОПУШЕНИЯ ЛИСТА МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ: ОПИСАНИЕ МЕТОДОМ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО ФЕНОТИПИРОВАНИЯ

Дорошков А.В. \*, Генаев М.А., Афонников Д.А.,

Пшеничникова Т.А.

ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН

(Новосибирск), Россия

\*e-mail: ad@bionet.nsc.ru

Один из механизмов адаптации растений мягкой пшеницы связан с формированием трихом на поверхности органов. Известно, что этот признак вносит существенный вклад в защиту растений от биотических и абиотических стрессов. На данный момент Каталог генов символов пшеницы включает только два локуса, ассоциированных с опушением листа – это ген *H11*, расположенный в хромосоме 4В и ген *H12*, расположенный в хромосоме 7В. До недавнего времени основной проблемой поиска генов, контролирующих этот адаптивный признак, было несовершенство методов фенотипирования, их низкая точность и малопригодность для широкомасштабного анализа. Нами был разработан новый метод высокопроизводительного и высокоточного фенотипирования для описания этого признака с использованием алгоритма компьютерного анализа изображений, реализованного в программе LHDetect2 ([wheatdb.org/lhdetect2](http://wheatdb.org/lhdetect2)). Он позволяет извлекать количественные характеристики опушения (длина индивидуальных трихом и их количество) из микроизображений сгиба листа. Мы применили этот метод для анализа генетического разнообразия опушения листа мягкой пшеницы, диких сородичей и ряда форм с интрогрессией признака опушения от последних. Анализ выявил два четко различимых морфологических типа опушения у исследованных сортов мягкой пшеницы: (1) длинное и густое опушение и (2) редкое и короткое опушение. Из более чем 60 проанализированных сортов не было найдено ни одного с полным отсутствием трихом на поверхности листа. Интрогрессивные линии 102/00<sup>i</sup> (донор опушения листа *Aegilops speltoides* Taush.) и 821 (донор опушения *Triticum timopheevii*) значительно отличались от описанных ранее групп. Для них было характерно длинное опушение с низкой плотностью расположения трихом (3). Используя линию 102/00<sup>i</sup> мы сравнили проявление этого гена в различном генотипическом окружении. Выяснилось, что ген *H12<sup>ae<sup>sp</sup></sup>* способен взаимодействовать с генотипическим окружением опушенных форм и усиливать проявление этого признака. Следует отметить, что значения средней длины трихом и плотности опушения почти изогенной линии сорта Саратовская 29, несущей ген *H12<sup>ae<sup>sp</sup></sup>* превосходят соответствующие значения всех исследованных сортов мягкой пшеницы. Таким образом, интрогрессия гена *H12<sup>ae<sup>sp</sup></sup>* от *Ae. speltoides* увеличивает генетическое разнообразие этого признака у мягкой пшеницы, а ген *H12<sup>ae<sup>sp</sup></sup>* взаимодействует с генотипическим окружением форм-реципиентов.

#### ФОРМИРОВАНИЕ НОВЫХ ПРИЗНАКОВ ПРИ ИНТРОГРЕССИИ ХРОМАТИНА РЖИ В ГЕНОМ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Кабаненко Ю.Н. \*, Дорошков А.В., Добровольская О.Б., Силкова О.Г.

ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН

(Новосибирск), Россия

\*e-mail: kabanenko@bionet.nsc.ru

Интрогрессия чужеродного хроматина в геном пшеницы используется для обогащения генофонда пшеницы. Первым шагом этого процесса является гибридизация с определенным видом. Гибридизация видов, находящихся в далеком таксономическом родстве, с последующим удвоением гаплоидных геномов у потомства, приводит к образованию новых аллополиплоидных видов. Этот процесс событий приводит к важным изменениям на генетическом, эпигенетическом, транскриптомном и протеомном уровнях. Такие изменения могут иметь значительные последствия для морфологических признаков, что приводит к формированию новых фенотипов у растений. Задачей данной работы явился поиск механизмов формирования новых морфологических признаков, в том числе «опушение листа» и «восковой налет», у растений пшеницы при интрогрессии хромосомы ржи 1R. Материалом для исследования послужили популяции гибридов F<sub>2</sub> 1Rv(1A)×Саратовская 29, где 1Rv(1A) - пшенично-ржаная замещенная линия (2n=42, *Triticum aestivum* L./*Secale cereale* L.), в геном которой включена хромосома ржи от озимого сорта Вятка. Исследования по изучению мейотического поведения и характера передачи хромосом ржи, находящихся в генотипической среде пшеницы, показали, что разделение унивалентных хромосом на хроматиды в АI мейоза является предпосылкой для элиминации хромосом и образования различных модификаций. При равных условиях хромосомы ржи чаще пшеничных разделяются на сестринские хроматиды, что создает условия для их преимущественной элиминации. Исследование, начатое по передаче хромосомы ржи 1R сортам пшеницы от линии 1Rv(1A) дало неожиданные результаты. В F<sub>2</sub> скрещивания 1Rv(1A)×С29 20,8% растений имели измененный фенотип. В отличие от родительских форм 1Rv(1A) и сорта Саратовская 29, а также растений F<sub>1</sub>, эти растения характеризовались изменением многих морфологических признаков, в том числе они утратили восковой налет и изменили тип опушения, вплоть до полного его исчезновения. С помощью компьютерного анализа растения с измененным типом опушения были разделены на три группы, достоверно различающиеся между собой и отличающиеся от родительских форм. Геномная *in situ* гибридизация этих растений показала различный состав геномов по хромосоме ржи (1R1R, 1RS, 1R и отсутствие хромосомы ржи). Получена мутантная форма замещенной линии (2n=42) с отсутствием воскового налета и опушения. При выращивании потомств растений с новыми признаками, эти признаки наследовались. Полученные результаты дают новую информацию о формообразовании при интрогрессии чужеродного хроматина в геном мягкой пшеницы.

Работа выполнена при поддержке интеграционного проекта СО РАН/ НАНБ №2.

# ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ГЕНЕТИКА

## ПРИНЦИП ДОПОЛНИТЕЛЬНОСТИ ГЕНОМОВ В ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ГЕНЕТИКЕ

*Тихонович И.А.*

*ГНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии  
Россельхозакадемии (Санкт-Петербург, Пушкин), Россия  
e-mail: ARRIAM2008@yandex.ru*

Отношения организмов между собой и окружающей средой – предмет экологии, которая охватывает чрезвычайно широкий круг явлений. Вычленение из него генетической составляющей сводилось до недавнего времени в основном к анализу реализации процессов наследственности под влиянием окружающей среды. В настоящий момент экологическая генетика получила новый мощный импульс развития на основе достижений геномики и метагеномики. Значительно расширяется генетический анализ контроля надорганизменных отношений, поскольку стало понятно, что без этого невозможно понять закономерности становления важнейших адаптаций, которые определяют не только способность организма выживания в природе, но и стабильность сельскохозяйственного производства. В постгеномную эру возможно сравнить резервы генетической информации, содержащейся в геномах эу- и прокариот. Это сравнение показывает, что развитие высших эукариотических организмов основано на 2-3 десятках тысяч генов, при этом разнообразие этих генов весьма ограничено, о чем говорит высокая степень сходства состава генов. В этом заключается определенный парадокс: необходимость достижения максимальной пластичности в чрезвычайно разнообразных условиях существования на основе относительно стабильного эукариотического генома. Решение этого парадокса возможно было бы в том случае, если имеется достаточный резерв генетической информации, который может быть мобилизован в случае необходимости и который способен оперативно обеспечить адаптацию организмов. Всем эти требованиям отвечает метагеном различных экологических ниш, в которых приходится существовать растениям. В результате изучения богатейшего разнообразия почв России показано, наличие корового, относительно стабильного метагенома и изменчивой части, характерной для данной почвенной разности. Количество генетической информации, содержащейся в метагеноме на десяток порядков превышает таковую у эукариот. Возможность ее использования высшими организмами путем симбиоза определяется стабильным сосуществованием растений с десятками видов различных микробов в едином онтогенетическом континууме. Такой симбиоз обеспечивает появление у надорганизменных образований признаков, которыми зачастую не обладали участники симбиоза до объединения. Хорошо известный пример из этой области – симбиоз с клубеньковыми бактериями и микоризными грибами, который обеспечивает автономность растений по важнейшим элементам питания. Единение генетических систем хозяина и симби-

онта определило необходимость введения понятия симбиогенома, как части всего хологенома надорганизменных систем. Симбиогеном обладает несравненно большими возможностями для адаптаций по сравнению с индивидуальным набором генов хозяина. Исследования разнообразия геномов клубеньковых бактерий в различных условиях существования показало, что они обладают открытым геномом, способным реагировать, например, на солевые стрессы, обеспечивая таким образом адаптацию хозяев к маргинальным условиям существования. Формирование микробно-растительных систем (МРС) подчиняется ряду ограничений, которые накладываются генетической системой хозяина. Это, прежде всего, специфичность взаимодействия, обеспечиваемая обменом сигналами между партнерами, системная регуляция отношений в интересах всей МРС, которые осуществляются на основе отрицательных связей, интеграция метаболических путей, в которой действуют в основном положительные связи и т.д. Эффективность адаптаций эукариот на основе предлагаемого нами принципа дополненности геномов можно оценить исходя из того, что эукариоты возникли в результате симбиогенеза и поэтому изначально предрасположены к аккомодации новых партнеров в имеющихся обширных нишах (межклеточные пространства, внутриклеточные компартменты), в которых может осуществляться хостинг многочисленных и разнообразных микробных сообществ. Знания генетического контроля образования МРС позволяет осуществлять целенаправленные биотехнологические программы по повышению адаптационного потенциала и стабилизации продуктивности агроценозов.

Исследование поддержано грантами Президента РФ НШ-337.2012.4 и НШ-4603.2014.4, Министерства образования и науки (соглашения № 8056 и 8109) и РФФИ (13-04-01702-а и 13-04-01703-а).

## РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНЫЙ КОНТИНУУМ КАК СПОСОБ СУЩЕСТВОВАНИЯ ЦАРСТВА РАСТЕНИЙ

*Борисов А.Ю.*

*ГНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии  
Россельхозакадемии (Санкт-Петербург, Пушкин), Россия  
\*e-mail: ayborisov@yandex.ru*

Наземные растения наполнены микроорганизмами, их фенотип – продукт согласованного и скоординированного проявления генов растений и одного или более микроорганизмов (Dawkins, 1999). Растение и микроорганизмы в состоянии генетической и метаболической интеграции представляют собой надорганизменную систему, обладающую адаптивными свойствами, которыми не обладают интегрированные в системе организмы по-отдельности. Взаимовыгодные отношения микроорганизмов и растений рассматривали как специфические случаи ха-



рактерные для избранных видов или семейств, а большинство колонизирующих растение микроорганизмов считали болезнетворными (особенно у сельскохозяйственных видов растений). Однако присутствие микроорганизмов внутри и на поверхности растений является правилом, а не исключением. Примерами этому являются микроорганизмы-патогены растений, мутуалистические грибные эндофиты, микоризные грибы, клубеньковые и другие азотфиксирующие бактерии, а также микроорганизмы ризосферы (зоны корней) и филлосферы (зоны листьев, надземной части растения). Многие из этих микроорганизмов развиваются внутри тканей растения (эндосферы) и поэтому являются эндофитами. Таким образом, логично предположить, что растения были ассоциированы с микроорганизмами в ходе всего процесса их эволюции, представляя собой растительно-микробный эволюционный континуум, как это было предположено для мутуалистических симбиотических систем бобовых и эндофитных систем растений (Schulz and Boyle, 2005; Проворов и др., 2009; Shtark et al., 2012). Это явно подтверждается исследованиями разнообразия микроорганизмов ассоциированных с водорослями – эволюционными «предшественниками» наземных растений, обнаружившими десятки разнообразных бактерий и грибов, ассоциированных с ними (Menezes et al., 2010). Итак, растение абсолютно свободное от микроорганизмов является экзотическим исключением, а не эволюционно выверенной и биологически оправданной «нормой» (Partida-Martinez and Heil, 2011).

Dawkins R 1999. The Extended Phenotype. Oxford: Oxford University Press.

Menezes CB et al 2010. Microbial diversity associated with algae, ascidians and sponges from the north coast of Sro Paulo state, Brazil. *Microbiol Res.* 165(6): 466-82. doi: 10.1016/j.micres.2009.09.005.

Partida-Martinez LP and Heil M 2011. The microbe-free plant: fact or artifact? *Frontiers in Plant science* 2(100): 1-16. doi: 10.3389/fpls.2011.00100

Schulz B and Boyle C 2005. The endophytic continuum. *Mycol. Res.* 109: 661–686

Shtark OY et al 2012. Mutually beneficial legume symbioses with soil microbes and their potential for plant production *Symbiosis* 58(1): 51-62 DOI 10.1007/s13199-013-0226-2

Проворов НА 2009. Растительно-микробные симбиозы как эволюционный континуум // *Ж. Общ. Биол.* Т. 70. № 1. С. 10–34.

## НАДВИДОВЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ

**Проворов Н.А.** <sup>\*1</sup>, **Тихонович И.А.** <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ГНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии (Санкт-Петербург, Пушкин), Россия;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: provorov@newmail.ru

Изучение интегративных процессов, вызывающих объединение генетических систем разнородных организмов, является одной из наиболее актуальных проблем современной биологии. Возникающие при этом надвидовые системы наследственности разделяют на три типа: метагеном (совокупность наследственных факторов микробного сообщества, занимающего определенную нишу), симбиогеном (функционально интегрированная система генов, которые принадлежат тесно взаимодействующим партнерам и определяют фенотип образуемого ими симбиоза) и хологеном (система наследственности симбиогенно возникшего организма). Целостность метагенома связана с координированной регуляцией и горизонтальным переносом генов разнородных организмов, а в случае почвенных микробиоценозов – также и с поддержанием стабильного пула внеклеточной ДНК. Становление симбиогенома определяется

сигнальными взаимодействиями партнеров, которые контролируют формирование объединенных метаболических путей, а также обслуживающих эти пути клеточных и тканевых структур. Трансформация симбиогенома в хологеном основана на эндосимбиотическом переносе генов, который по своим молекулярным механизмам сходен с эволюцией геномов унитарных организмов. У симбиотических бактерий эти переходы сопряжены со становлением многокомпонентного, редуцированного и рудиментарного типов генома, характерных для экологически и генетически облигатных симбионтов, а также для клеточных органелл, соответственно. При этом строгость передачи симбионтов в поколениях хозяина эволюционировала от псевдо-вертикальной (через внешнюю среду) к транс-эмбриональной (через зародыши и окружающие их ткани) и транс-овариальной передаче (через половые клетки), на основе которой сформировалась система цитоплазматического наследования клеточных органелл. Для симбиозов норма реакции включает адаптивные изменения наследственного материала, в том числе возникновение надвидовых генетических систем в ответ на изменения внешних условий. Эта эволюция основана на групповом отборе в пользу внутри- и межвидового альтруизма, который определяет развитие многих сложно организованных биосистем.

## ЦЕЛОСТНОСТЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА КЛЕТОК ДОМОВОЙ МЫШИ ЗАВИСИТ ОТ ДЕЙСТВИЯ ЗООСОЦИАЛЬНЫХ ХЕМОСИГНАЛОВ

**Давев Е.В.** <sup>\*</sup>, **Дукельская А.В.**

Санкт-Петербургский государственный университет

(Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: mouse\_gene@mail.ru

Быстрый и адаптивно-значимый ответ генетического аппарата живой клетки в ответ на изменения в окружающей среде – одно из необходимых условий ее выживания. В многоклеточном организме, где многие клетки лишены прямого контакта с окружающей средой, возникает специализированный механизм, позволяющий практически каждой клетке отвечать на внешние воздействия на уровне работы ее генома. У высокоорганизованных животных и человека таким механизмом является сложно организованная нейроэндокриноиммунная система. Она обеспечивает формирование комплексного адаптивного ответа организма, на всех уровнях организации (от геномного до организменного). Кроме того, ею контролируется ответ целых групп организмов на надорганизменном уровне. Взаимодействие, тем более, причинно-следственные связи между этими уровнями остаются мало исследованными. Не хватает данных о влиянии социально-значимых средовых влияний на генетический аппарат клеток животных. Не изучены последствия такого влияния, проявляющиеся на организменном и надорганизменных уровнях. Комплексное изучение ольфакторно-индуцированных ответов клеток-мишеней домашней мыши (*Mus musculus* L.) цитогенетическими методами позволяет выявить некоторые закономерности синэкологических взаимоотношений на разных уровнях. Так, хемосигналы самцов (или самок), поступающие в организм особой-реципиентов одноименного пола, дестабилизируют работу хромосомного аппарата клеток костного мозга, следствием чего является иммуносупрессия. У самцов-реципиентов выявлено также нарушение целостности хромосомного аппарата сперматоцитов, что сказывается на репродуктивных качествах особей. В тоже время, хемосигналы самок повышают стабильность хромосомного аппарата в митотически и мейотически делящихся клетках самцов. При этом эффективность такого действия зависит от порядка сочетания используемых ольфакторных сигналов. Распространение ольфакторно-индуцированной иммуносупрессии в группах жи-

вотных с помощью хемосигналов позволяет предположить, что и угнетение репродукции может быстро передаваться интактным животным-реципиентам посредством феромонов, которые индуцируют хромосомные aberrации в половых клетках. Так как в большинстве вышеперечисленных примеров воздействие хемосигналами было опосредовано органами обоняния, становится очевидной роль нервной системы в поддержании целостности генома клеток-мишеней реципиентного организма. Особый интерес вызывает зависимость экскреции хемосигналов в окружающую среду и их рецепции от зоосоциальных условий, генотипа особи доноров и реципиентов. Такая зависимость предполагает, по крайней мере, у домашней мыши наличие генотип-специфической регуляции приспособленности и отбора, зависящих от различных зоосоциальных факторов. Ряд ольфакторно-индуцированных эффектов, выявленных у женщин и мужчин, позволяет допустить возможность существования аналогичного механизма у человека.

#### АНАЛИЗ ЧАСТОТ ГЕНОТИПОВ И АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВ *UCP* И *PPAR* В ГРУППЕ ЖИТЕЛЕЙ БЛОКАДНОГО ЛЕНИНГРАДА И КОНТРОЛЬНЫХ ГРУППАХ

**Глотов О.С.\*<sup>1</sup>, Тарковская И.В.<sup>1</sup>, Турьева Л.В.<sup>2</sup>, Хорошинина Л.П.<sup>2</sup>, Иващенко Т.Э.<sup>3</sup>, Баранов В.С.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>3</sup>НИИ акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта СЗО РАМН (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: olglotov@mail.ru

Исследование причин старения организма и поиск путей продления периода «активного долголетия» человека являются одними из наиболее актуальных проблем современной биологии и молекулярной медицины. Установлено, что одним из эффективных способов предупреждения старения является употребление в пищу менее калорийных продуктов и снижение калорийности питания. В связи с этим особый интерес представляет изучение жителей блокадного Ленинграда, которым удалось выжить в тяжелейших условиях, не смотря на голод. Для исследования нами были выбраны гены, продукты которых обеспечивают энергетический обмен клетки и влияют на сохранение энергии необходимой не только для обыденной жизни, но и для выживания во время голода: это гены разобщающих белков 2 и 3 (*UCP2* и *UCP3*) и гены рецепторов активации пролиферации пероксисом (*PPARA*, *PPARD* и *PPARG*). Анализ полиморфизма данных генов помогает установить, какие генотипы элиминировались из популяции, а какие предрасполагали к долгожительству и способствовали выживанию в условиях голода. Был проведен анализ частот генотипов и аллелей генов *UCP2* (Ala55Val), *UCP3* (C-55T), *PPARA* (G/C), *PPARD* (+294T/C) и *PPARG* (Pro12Ala) у 206 жителей блокадного Ленинграда и 139 лиц старше 69 лет. Частота генотипа G/G оказалась достоверно выше в группе жителей блокадного Ленинграда по сравнению с таковой в группе лиц старше 69 лет подгруппы лиц старческого возраста (73,0% и 57,3%, соответственно,  $\chi^2=5,1$ ,  $p=0,02$ ,  $df=1$ ), а генотипа G/C достоверно ниже (24,4% и 43,8%, соответственно,  $\chi^2=4,2$ ,  $p=0,04$ ,  $df=1$ ), поэтому можно предположить, что аллель G и генотип G/G (*PPARA*) способствовали выживанию в условиях голода в период блокады Ленинграда. Частота генотипа C/C оказалась достоверно выше в группе женщин блокадного Ленинграда по сравнению с группой женщин старше 69 лет (53,2% и 40,5%, соответственно,  $\chi^2=4,0$ ,  $p=0,046$ ,  $df=1$ ), что позволяет предположить о том, что у мужчин и женщин разные

генотипы могли способствовать выживанию в условиях голода в период блокады Ленинграда.

#### ГЕНОМНЫЕ ОСТРОВА БАКТЕРИЙ: СТРУКТУРА И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ

**Румянцева М.Л.\*<sup>1</sup>, Мунтян В.С., Ситаров Б.В.**

ГНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии (Пушкин), Россия

\*e-mail: mroumiantseva@yandex.ru

К геномным островам относят как участки хромосомной ДНК с пониженным содержанием ГЦ-пар, которые могут содержать определенные гены или группы генов, определяющих их функциональную значимость, например, ставшие классическими «острова патогенности» или «симбиотические острова». Анализ нуклеотидных последовательностей таких протяженных участков хромосомной ДНК свидетельствует в пользу того, что они были привнесены в результате горизонтального переноса генов: нередко они содержат протяженные участки, гомологичные фаговым ДНК или плазмидам других видов микроорганизмов, транспозоны, многочисленные мобильные элементы, а также могут включать гены, которые не являются необходимыми для жизнедеятельности бактерий, но могут давать им преимущества, например, при проникновении в клетки нового хозяина или при адаптации к изменениям условий окружающей среды («экологические острова»). В хромосоме клубеньковых бактерий вида *Sinorhizobium meliloti* выявлено 6 протяженных последовательностей, обогащенных составом ГЦ-пар, мобильными элементами и генами, относящимися к различным COG-группам. Не менее трех из этих последовательностей соответствуют общепринятым характеристикам «геномных островов». Рассматривается вопрос эволюционного накопления или «вымывания» островов в популяциях *S. meliloti* под воздействием биотических и абиотических факторов в географически различных генцентрах растений-хозяев.

#### МЕТАГЕНОМИКА КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ГЛОБАЛЬНЫХ ЭВОЛЮЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ

**Першина Е.В.\*<sup>1</sup>, Дольник А.С.<sup>2</sup>, Пинаев А.Г.<sup>1</sup>, Проворов Н.А.<sup>1</sup>, Андронов Е.Е.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ГНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии (Пушкин), Россия;

<sup>2</sup>Ресурсный центр развития молекулярных и клеточных технологий СПбГУ (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: pershina.elizaveta@yandex.ru

Возникновение метагеномики связано с развитием технологий высокопроизводительного секвенирования, которые позволили перейти к изучению генетической организации сложных надвидовых систем, таких как почвенный метагеном. Он включает в себя два основных компонента: 1) «метагеном-момент» (микробное сообщество, которое в данный момент активно в почве) и 2) «метагеном-память» (ДНК покоящихся клеток, свободная ДНК). Взаимодействие этих компонентов определяется разнообразными экологическими факторами: генетический материал из «памяти» может быть реализован «моментом» в процессе трансформации бактерий внеклеточной почвенной ДНК, а генетический материал из «момента» может переходить в «память» в результате гибели микроорганизмов и депонирования их ДНК на глинисто-минеральном почвенном матриксе. Эти процессы обеспечивают генетическую интеграцию микробиома, позволяя рассматривать его как суперорганизм, который обладает изменчивостью и наследственностью. Для исследования

микробиомов на системном уровне необходимо разработать новые методы, которые позволили бы оперировать с интегральными параметрами биоразнообразия. Мы разработали систему для филогенетического анализа микробиомов – эволюционное пространство (ЭП) гена 16S рРНК. Оно представляет собой многомерное метрическое пространство, в котором генетические расстояния между последовательностями гена 16S рРНК представлены в виде геометрических расстояний между отображающими их точками. Для построения ЭП нами была проанализирована матрица генетических дистанций, включающая более 200 000 последовательностей из базы данных SILVA. С использованием модели правильного симплекса построено 13-ти мерное метрическое пространство, в котором были картированы все выбранные последовательности. При анализе ЭП был обнаружен ряд геометрических паттернов, связанных с эволюцией гена 16S рРНК (например, выявлено предполагаемое место локализации предковой последовательности этого гена). Для разработки интегральных параметров оценки биоразнообразия, в ЭП были картированы последовательности, полученные в ходе метагеномного анализа динамики микробиомов в условиях солевого стресса. Вычислены интегральные параметры, описывающие сукцессию микробиомов: центральная точка, вектор ее смещения и угол между векторами, отражающие направление и силу воздействия экологического фактора. Таким образом, современная метагеномика, при наличии адекватных методов интерпретации ее результатов, позволяет перейти от генетического анализа локальных микробных популяций к изучению глобальных процессов, связанных с эволюцией биосферы. Работа поддержана грантами РФФИ 12-04-00409а и 12-04-01371а.

#### ДИНАМИКА ФАКТОРОВ МАТЕРИНСКОЙ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

**Быков Р.А.** <sup>\*1</sup>, **Илинский Ю.Ю.** <sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский университет (Новосибирск), Россия

\*e-mail: bykovra@bionet.nsc.ru

Эндосимбиотическая бактерия *Wolbachia* широко распространена в природных популяциях модельного объекта генетических исследований – *Drosophila melanogaster*. Генетическое разнообразие *Wolbachia* у *D. melanogaster* подразделяют на 6 генотипов, которые формируют две группы – MEL (wMel, wMel2, wMel3, wMel4) и CS (wMelCS, wMelCS2). Установлено, что данные группы генотипов строго сонаследуются с определенными кладами мтДНК *D. melanogaster*: MEL – с M-кладой, а CS – с S-кладой. При этом только два генотипа wMel и wMelCS широко распространены в мире. Доля *Wolbachia* генотипа wMel в популяциях составляет более 95 %, а wMelCS встречается с частотой менее 1 %. В литературе описываются свидетельства глобального вытеснения генотипа wMelCS генотипом wMel, однако его причины и механизм остаются нераскрытыми. Также не выяснены причины высокой инфицированности *Wolbachia* природных популяций *D. melanogaster*. Какова динамика *Wolbachia* в популяциях *D. melanogaster*, и какие факторы на нее влияют? Чем обусловлена столь широкая распространенность бактерии в природе? Для ответа на эти вопросы была изучена динамика wMel и wMelCS генотипов *Wolbachia* в экспериментальных популяциях *D. melanogaster*. На основании математической модели был проведен анализ факторов, влияющих на поддержание и распространение бактерии в исследуемых популяциях. Для эксперимента были использованы ранее охарактеризованные по

компонентам приспособленности линии *D. melanogaster* Bi90 и w153, инфицированные *Wolbachia* генотипа wMel и wMelCS, соответственно, а также производные от них неинфицированные линии. Из полученных в результате реципрокных скрещиваний гибридов, отличающихся между собой только статусом инфицированности и генотипом *Wolbachia*, были созданы четыре экспериментальные популяции с разными комбинациями компонент материнской наследственности: M-wMel/S-wMelCS, M-wMel/S-w, S-wMelCS/M-w и M-w/S-w, где M и S – митотип *D. melanogaster*, а wMel и wMelCS – генотип *Wolbachia*. Было проанализировано 12 поколений из каждой популяции. Размер популяции не превышал 2000 особей. В докладе представлены результаты анализа динамики инфицированности экспериментальных популяций *D. melanogaster*, в ходе которого выявлено увеличение в ряду поколений доли особей с инфицированной цитоплазмой, а также вытеснение *Wolbachia* генотипа wMelCS генотипом wMel.

#### ДВУРОДИТЕЛЬСКОЕ НАСЛЕДОВАНИЕ *WOLBACHIA* У *DROSOPHILA MELANOGASTER*

**Горячева И.И.** <sup>\*1</sup>, **Андреанов Б.В.** <sup>1</sup>, **Александров И.Д.** <sup>2</sup>, **Александрова М.В.** <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук (Москва), Россия;

<sup>2</sup>Объединенный институт ядерных исследований (Дубна), Россия

\*e-mail: iigoryacheva@mail.ru

Облигатная внутриклеточная бактерия *Wolbachia* инфицирует до 66% всех видов насекомых и стабильно поддерживается в их популяциях. Цитоплазматическая локализация бактерии в клетках предполагает материнское наследование как основной путь передачи симбионта в ряду поколений хозяина. Эффективность передачи *Wolbachia* в природных популяциях *Drosophila melanogaster* и *Drosophila simulans* не превышает 97%, что ставит вопрос о существовании механизмов, компенсирующих потерю микроорганизма и поддерживающих популяцию в состоянии равновесия по признаку инфицированности. К числу таких механизмов можно отнести изменение пищевых предпочтений, увеличение устойчивости к энтомопатогенам у имаго и увеличение конкурентоспособности личинок мух, инфицированных *Wolbachia*, что, однако, не исключает наличия прямых путей компенсации потери симбионта при неточной материнской передаче. Была изучена передача *Wolbachia* через гаметы самца и наследование в ряду поколений переданной через гаметы самца бактерии. Для этого были проведены внутривидовые скрещивания и получены внутривидовые межлинейные гибриды F<sub>1</sub> путем массового скрещивания девственных самок лабораторной линии Черноморка *D. melanogaster* без *Wolbachia* с изогенными самцами, инфицированными *Wolbachia*. Девственные самки F<sub>1</sub> индивидуально скрещивались с самцами-братьями. Анализ на наличие *Wolbachia* проводился индивидуально для каждой самки и самца. В поколении F<sub>2</sub> был проведен молекулярно-генетический анализ на присутствие бактерии по пяти генам-маркерам, используемым при мультилокусном типировании *Wolbachia*. Всего было проанализировано 1763 индивидуальных гибридов F<sub>1</sub> и 580 линий F<sub>2</sub> от межлинейных скрещиваний. Было показано, что бактерии передается через гаметы самца с высокой частотой, но количество бактериальной ДНК оказывается сниженным в 1000 раз по сравнению с количеством бактериальной ДНК в контрольной инфицированной линии. Наследование *Wolbachia* в поколении F<sub>2</sub> оказалось менее 1%. Полученные результаты предполагают альтернативные варианты переноса ДНК симбиотической бактерии: либо как ДНК



микроорганизма, оказавшейся в сперматозоиде в результате дефектов сперматогенеза с последующим встраиванием в геном части соматических клеток; либо как единичной бактерии, не способной преодолеть иммунитет хозяина.

**ХРОМОСОМНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПОДХОДЫ  
В ИЗУЧЕНИИ ПРОБЛЕМ ЭВОЛЮЦИИ  
И ИЗМЕНЧИВОСТИ ПОЛЕВОК ПОДРОДА *TERRICOLA*  
(RODENTIA, ARVICOLINAE, *MICROTUS*)  
ФАУНЫ РОССИИ**

**Баскевич М.И.**<sup>\*1</sup>, **Потапов С.Г.**<sup>1</sup>, **Миронова Т.А.**<sup>1</sup>,  
**Хляп Л.А.**<sup>1</sup>, **Окулова Н.М.**<sup>1</sup>, **Шварц Е.А.**<sup>2</sup>, **Сапельников С.Ф.**<sup>3</sup>,  
**Литвинова Е.М.**<sup>4</sup>, **Ашибоков У.М.**<sup>5</sup>, **Григорьев М.П.**<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>Российское отделение WWF (Москва), Россия;

<sup>3</sup>Воронежский государственный заповедник (ст. Графская), Россия;

<sup>4</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова (Москва), Россия;

<sup>5</sup>Ставропольский противочумный институт (Ставрополь), Россия

\*e-mail: mbaskevich@mail.ru

Проблемы эволюции и изменчивости полевок подрода *Terricola* фауны России рассмотрены на основе хромосомных (рутинная, G-, C-окраска хромосом) и молекулярных (секвенирование генов *cytb* и *p53*) подходов. Представлены и анализируются результаты кариотипирования анонимной выборки *Terricola* (n=120) из 16-ти пунктов Кавказа от Краснодарского края до Северной Осетии, из изолированного лесного о-ва (г. Стрижамент) в Ставрополье и из 5-ти локалитетов на Русской равнине. В изученной анонимной выборке с Кавказа выявлены две кариоморфы: с 2n=54, NF=60 (n=26) и с 2n=54, NF=58 (n=72), относящиеся соответственно к видам-двойникам *T. majori* и *T. daghestanicus*. Полученные хромосомные данные уточняют особенности распространения кавказских видов-двойников и подтверждают их сосуществование при отсутствии гибридизации в местах контакта. Установлено, что длительная географическая изоляция (голоцен) популяции *T. majori* на лесном о-ве г. Стрижамент в Ставрополье (n=10) не привела к возникновению хромосомных отличий между кавказскими и предкавказскими популяциями вида, что противоречит данным филогеографии, согласно которым изученная нами с помощью секвенирования гена *cytb* выборка с г. Стрижамент образует отдельный подкластер среди исследованных представителей *T. majori*. На Русской равнине в Брянской, (n=2), Тверской (n=1), Новгородской (n=3) и Калужской (n=3) областях нами выявлены 54-хромосомная, а в Воронежской обл. (n=3) – 52-хромосомная формы *T. subterraneus*. Полученные данные уточняют представления о географическом распространении двух хромосомных форм *T. subterraneus* в Восточной Европе и позволяют высказать предположение о том, что дивергенция кариотипов подземной полевки по числу хромосом (PT), по-видимому, связана с ледниковым разрывом. Гипотетическая реконструкция событий плейстоцена находит отражение в наших результатах по филогеографии (*cytb*) *T. subterraneus* на Русской равнине. Также с помощью методов дифференциальной окраски хромосом (G-, C-banding) и на основе использования секвенирования генов мт (*cytb*) и яд (*p53*) ДНК рассмотрены неясные вопросы филогении *Terricola* фауны России. Полученные генетические результаты противоречат выделению понтическо-кавказской группы видов. Исследование поддержано грантом РФФИ № 12-04-01139а.

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И КЛЕТОЧНЫЕ  
МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ СИМБИОТИЧЕСКИХ  
КЛУБЕНЬКОВ ГОРОХА (*PISUM SATIVUM* L.)**

**Китаева А.Б.**<sup>1</sup>, **Демченко К.Н.**<sup>1,2</sup>, **Цыганова А.В.**<sup>1</sup>,  
**Цыганов В.Е.**<sup>\*1</sup>

<sup>1</sup>ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУН Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: ttsyganov@arriam.spb.ru

Формирование симбиотического клубенька подразумевает запуск дедифференцировки и дифференцировки клеток корня бобового растения, инициируемых ризобийными Nod-факторами. Очевидно, что цитоскелет играет важную роль в данных процессах. Был проведен иммуноцитохимический анализ с использованием конфокальной лазерной сканирующей микроскопии организации микроотростков в симбиотических клубеньках гороха дикого типа и мутантов, блокированных на различных стадиях развития: SGEFix-1 (*sym40*), формирующего гипертрофированные инфекционные нити и капли, SGEFix-2 (*sym33*), формирующего «запертые» инфекционные нити из которых не происходит выхода бактерий и Sprint-2Fix (*sym31*), характеризующегося недифференцированными бактериоидами. В меристематических клетках тубулиновый цитоскелет представлен сетью перинуклеарных и кортикальных микроотростков, причем перинуклеарные трубочки связывают ядро клетки с периферией. По мере выхода клеток из зоны меристемы кортикальные микроотростки меняют свою ориентацию, при этом параллельные пучки микроотростков ориентируются перпендикулярно продольной оси клетки. Такой порядок сохраняется и в клетках, через которые проходят инфекционные нити, а также в которых формируются инфекционные капли (специализированные инфекционные структуры для эндоцитозоподобного выхода бактерий в цитоплазму растительной клетки). В то же время при эндоцитозе бактерий организация кортикальных микроотростков меняется, что связано со значительным увеличением размера инфицированных клеток. Было показано, что эндоплазматические микроотростки формируют канал, поддерживая рост инфекционной нити. Густая сеть эндоплазматических микроотростков окружает инфекционную каплю и связывает ее с клеточной периферией, подготавливая эндоцитоз бактерий. После эндоцитоза бактерий разветвленная сеть эндоплазматических микроотростков участвует в ориентации симбиосом (содержащих дифференцированную форму бактерии – бактериоид). Причем, формирование данной сети микроотростков не зависит от дифференцировки бактериоидов. В настоящее время с использованием той же серии мутантов проводится анализ роли актиновых микрофиламентов в ходе развития симбиотического клубенька гороха. Важная роль в развитии симбиотического клубенька принадлежит активным формам кислорода. В данном исследовании с использованием серии выше упомянутых мутантов было показано, что перекись водорода участвует в созревании стенки инфекционной нити (путем перекрестного связывания арабиногалактанпротеин экстензинов, повышая плотность матрикса инфекционной нити), эндоцитозе бактерий, а также деградации бактериоидов при старении симбиотического клубенька гороха.

Работа поддержана грантом РФФИ 13-04-40344-Н.

## ТРАНСГЕННЫЕ РАСТЕНИЯ ПРИРОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

**Матвеева Т.В.**\*, Богомаз Д.И., Павлова О.А., Афонин А.Н., Лутова Л.А.

ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургский государственный университет (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: radishlet@gmail.com

Активное развитие генной инженерии растений началось с открытия в 70-е годы естественной векторной системы, основанной на почвенных бактериях рода *Agrobacterium*. Эта бактерия способна переносить в клетку растения фрагмент (Т-ДНК) большой плазмиды Ti (вызывающей образование опухолей – корончатых галлов) или плазмиды Ri (вызывающей образование бородачатых корней). Экспрессия генов, закодированных в Т-ДНК, отвечает за развитие опухолей или косматых корней на растении. Эти новообразования представляют собой трансгенные ткани на нетрансгенных растениях. Однако у представителей рода *Nicotiana* была обнаружена фиксация Т-ДНК вставки в геноме растения и ее последующая передача в ряду половых поколений. Эта Т-ДНК была названа клТ-ДНК. Детальная характеристика клТ-ДНК показывает, что присутствующие в ней гены экспрессируются, а вставка Т-ДНК в геном *Nicotiana* могла происходить неоднократно и независимо. В нашей лаборатории впервые в результате целенаправленного поиска в ходе анализа более 200 видов двудольных растений выявлен новый пример горизонтального переноса генов между агробактериями и растениями: у видов в пределах рода *Linaria* обнаружены Т-ДНК-подобные последовательности. Показано, что в пределах рода *Linaria* представители секций *Speciosa* и *Linaria* имеют Т-ДНК в геномах. Они представляют собой монофилетическую группу. Представители этих секций расселены по территории Евразии и являются экологически более пластичными, чем виды *Linaria* без Т-ДНК. Филогенетические исследования рода позволяют предположить, что предковая форма льнянок была трансформирована около 1,5- 2 млн лет назад. Таким образом, человечество всю свою историю сталкивалось с трансгенными растениями и использовало их, как лекарственные. Обнаруженные нами трансгенные растения природного происхождения могут успокоить общественное мнение относительно биобезопасности трансгенных культур. Льнянки имеют нормальную морфологию, за миллионы лет своего существования не оказали губительного действия на экосистемы, за тысячелетия использования людьми в качестве лекарственных трав (*L. vulgaris*) не оказывали негативного влияния на здоровье людей.

Работа выполнена с использованием оборудования Ресурсного центра СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий» в рамках темпланов № 0.37.87.2011 «Метагеномный анализ микробиома как многофункционального высокоинтегрированного биосферного «интерфейса», № 0.37.526.2013 «Филогеографическое исследование видов рода *Linaria*, содержащих Т-ДНК *Agrobacterium rhizogenes* в геноме».

## ГОРИЗОНТАЛЬНЫЙ ПЕРЕНОС ГЕНОВ ИЗ АГРОБАКТЕРИЙ В ГЕНОМЫ ЭУКАРИОТ: МЕХАНИЗМ, ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРИЛОЖЕНИЯ, РОЛЬ В ЭВОЛЮЦИИ

**Чумаков М.И.**

ФГБУН Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН (Саратов), Россия

e-mail: chumakov@ibppm.sgu.ru

В первой части доклада приведен анализ генов вирулентности агробактерий, контролирующих перенос Т-ДНК-белкового

комплекса из агробактерий в эукариотическую клетку-реципиент. Рассмотрены начальные этапы взаимодействия партнеров (обмен сигналами, прикрепление, установление контакта), выход Т-ДНК из бактериальной клетки, формирование канала для переноса Т-ДНК через мембрану и цитоплазму, ядерную мембрану, встройка в геном клетки-реципиента. Более подробно эти данные рассмотрены в обзоре [1]. Во второй части доклада рассмотрены методы переноса Т-ДНК в растительные клетки *in vitro*, *in planta*, которые используются при создании трансгенных растений. В частности, рассмотрены технологии переноса маркерных и функциональных генов в составе Т-ДНК агробактерий в генеративные клетки растений. На основе литературных и собственных экспериментальных данных обсуждается возможный механизм переноса Т-ДНК в генеративные клетки растений при агробактериальной трансформации в условиях *in planta* [2]. На основе анализа литературных и собственных экспериментальных данных по переносу Т-ДНК в культуры клеток животных и человека, обсуждается возможность использования Т-ДНК-VirE2-VirD2 комплекса агробактерий в целях генотерапии. В третьей части доклада рассмотрена возможность горизонтального переноса генов агробактериями в ходе эволюции растений и животных. В частности, приведены данные компьютерного (tblastn) поиска последовательностей, гомологичных всем закодированным в Т-ДНК генам, который показал наличие последовательностей, кодирующих белки, гомологичные продукту бактериального гена *mas1* (манопинсинтазе) у 23 родов растений, гена *tms2* (индолацетамидгидролазы) у 20 родов растений и гена *tms1* (триптофан 2-монооксигеназа) у 15 родов растений. Нуклеотидные последовательности, гомологичные генам *rolB* и *rolC* в составе Т-ДНК (*A. rhizogenes*), обнаружены в расшифрованных геномах растений представителей родов *Catharantus*, *Linaria*, *Nicotiana*, *Plumbago* и *Withania*. Фрагменты ДНК, сходные с онкогенами в составе Т-ДНК обнаружены в ряде геномов животных: у представителей 13 видов рода *Drosophila*, а также в геномах *Anopheles gambiae*, *Bombyx mori*, *Helicoverpa armigera*, *Pediculus humanus*, *Spodoptera littoralis*, *Tribolium castaneum*.

1. Чумаков М.И. Белковый аппарат, реализующий горизонтальный перенос Т-ДНК из агробактерий в эукариотические клетки (обзор) // Биохимия. 2013. 8(12): 1670 – 1683.

2. Чумаков М.И., Моисеева Е.М. Технологии агробактериальной трансформации растений *in planta* (обзор) // Биотехнология 2012. 1: 8-20.

## ПОИСК НОВЫХ РЕГУЛЯТОРНЫХ ГЕНОВ ГОРОХА (*PISUM SATIVUM* L.), КОНТРОЛИРУЮЩИХ РАЗВИТИЕ АРБУСКУЛЯРНОЙ МИКОРИЗЫ

**Штарк О.Ю.**\*, Федорина Я.В.<sup>1</sup>, Ходарева Д.А.<sup>1, 2</sup>, Новоселова Н.Н.<sup>1</sup>, Жуков В.А.<sup>1</sup>, Борисов А.Ю.<sup>1</sup>, Тихонович И.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ГНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии (Санкт-Петербург), Россия;

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный технологический институт (Технический университет) (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: oshtark@yandex.ru

Арбускулярная микориза (АМ) – мутуалистический эндосимбиоз, образуемый большинством наземных растений и грибами *Glomeromycota*. АМ имеет большое экологическое значение и высокий потенциал использования в адаптивном сельскохозяйственном производстве. Одним из подходов, используемых для идентификации симбиотических генов растений, в том числе, участвующих в развитии АМ, является экспериментальный мутагенез, позволяющий выявлять регуляторные однокопийные,

т.н. *Sym*-гены. У бобовых существует общая генетическая система, контролирующая развитие азотфиксирующих клубеньков и АМ. Поэтому наиболее удобным и продуктивным подходом для поиска генов, вовлеченных в развитие АМ у бобовых, является анализ мутантов с нарушениями развития клубенька. В данной работе проведен анализ развития АМ при инокуляции грибом *Rhizophagus irregularis* BEG144 у не охарактеризованных ранее мутантов (ЭМС) гороха с дефектами поздних стадий развития клубенька. Установлено, что гены *Sym23*, *Sym24*, *Sym27* и *Sym34* вовлечены в процессы формирования не только азотфиксирующего симбиоза, но и АМ. Снижение параметров развития АМ также было выявлено у мутантов гороха по гену *Sym7*, кодирующему активатор транскрипции GRAS-семейства. Для выявления генов бобовых, контролирующих развитие АМ, но не участвующих в формировании клубенька, использовали метод прямого скрининга мутантов с нарушениями развития АМ непосредственно после ЭМС мутагенеза. Выявлена серия мутантов, как с пониженным, так и с избыточным микоризообразованием при инокуляции BEG144. У одного из наиболее перспективных мутантов, SGEMус-2, проявление мутантного фенотипа (пониженное микоризообразование) было наиболее выраженным в условиях снижения уровня освещенности. Подобный фенотип ранее не был описан в литературе. Установлено моногенное и рецессивное наследование данного признака. В настоящее время продолжается генетический и детальный фенотипический анализ различных мутантов, у которых были выявлены нарушения развития АМ. Дальнейшая характеристика уникальных мутантов с дефектами развития и функционирования АМ и определение последовательности идентифицированных генов должны внести вклад в понимание механизмов формирования и функционирования данного типа симбиоза, а также послужить основой для развития эволюционной биологии симбиозов бобовых растений. Работа выполнена при поддержке грантами РФФИ (12-04-01867, 13-04-01703).

**АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ РАССЕЛЕНИЯ ЧЕТЫРЕХ МЕТАЦЕНТРИЧЕСКИХ ХРОМОСОМНЫХ РАС ОБЫКНОВЕННОЙ БУРОЗУБКИ, *SOREX ARANEUS*, НА ТЕРРИТОРИИ БАСЕЙНА ДНЕПРА (БЕЛАРУСЬ), ЗАНИМАЕМОЙ РАНЕЕ АКРОЦЕНТРИЧЕСКОЙ РАСОЙ**  
*Крицук И.А.*<sup>2</sup>, *Гайдученко Е.С.*<sup>2</sup>, *Черепанова Е.В.*<sup>1</sup>, *Борисов Ю.М.*<sup>\*1</sup>

<sup>1</sup>Институт проблем экологии и эволюции А.Н. Северцова РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>Мозырский государственный педагогический университет И.П. Шамякина (Мозырь), Беларусь

\*e-mail: boris@sevin.ru

Анализ кариотипов современных популяций хромосомных рас обыкновенной бурозубки *Sorex araneus* (Linnaeus 1758) и их гибридов позволяет выявлять не только последние этапы их эволюции, но и оценить последовательность происходящих событий в прошлом. Кариотип с 10 парами диагностических акроцентрических хромосом (кариотип 10A) считается исходным в эволюции *S. araneus*. Такой кариотип на ареале *S. araneus* от Байкала до Британских остров был выявлен только в двух изолированных эндемичных популяциях: в Западных Альпах (раса Cordon) и на Балканах (раса Pelister). Во всех остальных популяциях этого вида присутствуют метацентрики, сформированные 1-10 парами акроцентрических хромосом в разных комбинациях. Нами на территории Беларуси было выявлено 32 особи *S. araneus* с акроцентрическим кариотипом. Эти данные указывают на то, что *S. araneus* с древним кариотипом 10A в настоящее время достаточно часто встречаются в Беларуси, от

окрестностей г. Березино на севере до бассейна реки Припять на юге. На этой 200 км территории совместно с бурозубками (кариотип 10A) в различных популяциях обитают представители рас Борисов, Киев и Białowieża. По-видимому, происхождение бурозубок с кариотипом 10A в междуречье Припяти и Днепра может быть связано с возможным существованием в этом регионе в прошлом автохтонной расы с акроцентрическими диагностическими хромосомами. С восстановлением лесной зоны и единого ареала *S. araneus* в позднеледниковье и начале голоцена (13–10 тыс. л. н.) популяция *S. araneus* на территории Беларуси с акроцентрическими хромосомами вступила в контакт с расами, заселяющими этот район с четырех сторон. Эти расы имели кариотипы преимущественно с метацентрическими диагностическими хромосомами. В результате процессов расселения хромосомных рас с метацентрическими хромосомами в этом регионе происходили процессы гибридизации и интрогрессии метацентриков хромосомных рас *S. araneus* в акроцентрические кариотипы автохтонной хромосомной расы обитающей здесь в прошлом. Эти процессы привели к возникновению в бассейне Днепра множества уникальных полиморфных популяций *S. araneus*, в том числе, с метацентриками монобрахиальной гомологии, принадлежащих к различным хромосомным расам Białowieża (hn), Киев (hi), Западная Двина (hk) и Борисов (hk).

**C8-01. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РАЗЛИЧИЯ МЕЖДУ ЛЕТНЕЙ И ОСЕННЕЙ РАСАМИ КЕТЫ (*ONCORHYNCHUS KETA*) О. САХАЛИН**

*Лапина А.Е.*<sup>\*1</sup>, *Самарский В.Г.*<sup>1</sup>, *Животовский Л.А.*<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Сахалинрыбвод» (Южно-Сахалинск), Россия;

<sup>2</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия

\*e-mail: cherevataya@gmail.com

У многих животных существуют сезонные расы, различающиеся сроками репродукции. Они есть и у тихоокеанских лососей. В частности, у кеты - одного из наиболее многочисленных и экономически важных видов лососевых рыб - имеются осенняя и летняя расы, различающиеся сроками нереста. Нерестилища осенней кеты приурочены к местам выхода грунтовых вод, тогда как нерестилища летней не связаны с местами выхода ключей. На о. Сахалин нерест летней кеты (в отличие от распространенной осенней) наблюдается сейчас лишь в бассейне р. Поронай, хотя еще в недалеком прошлом она, предположительно, размножалась и в других реках острова. Летняя кета имеет несомненную ценность как возможный объект искусственного разведения, в связи с чем мы исследуем биологические особенности летней кеты Сахалина. Репродуктивная изоляция рас кеты на протяжении длительного эволюционного времени должна была привести к биологическим различиям между ними. В течение 2010-2013гг. мы исследовали популяции летней и осенней рас кеты р. Поронай по морфологическим и генетическим признакам. Было выяснено, что по микросателлитным ДНК-маркерам популяция летней кеты отличается от популяции осенней расы той же реки больше, чем популяция осенней кеты друг от друга в разных реках восточного и северо-восточного Сахалина. Летняя и осенняя кета Пороная также значительно отличаются друг от друга по количеству пилорических придатков, однако не различаются по количеству чешуй в боковой линии, числу лучей в спинном и анальном плавниках, числу жаберных тычинок, незначительно отличаются по количеству жаберных лучей. Помимо меристических, исследованы пластические признаки. Обсуждаются возможные причины отмеченных различий и сходства репродуктивно изолированных популяций кеты разных рас, размножающихся в одном и том же речном бассейне.



### С8-02. БИОРАЗНООБРАЗИЕ МИКРОФЛОРЫ КАК ФАКТОР ПЛОДОРОДИЯ ПОЧВ

Ахтемова Г.А. \*, Жернаков А.И., Лошакова К.А., Мерзлякова Я.В., Борисов А.Ю., Тихонович И.А.  
ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии РАСХН  
(Санкт-Петербург), Россия  
\*e-mail: ahgulya@yandex.ru

Проводили сравнительное изучение структуры микробиоты в дерново-подзолистой легкосуглинистой почве (Белогорка, Ленинградская область) и в фильтрационно-мочном осадке (ФМО), который образуется на предприятиях по производству сахара (Залегощенский сахарный завод, Орловская область). В вышеуказанных субстратах выращивали традиционные сельхозкультуры горох посевной (*Pisum sativum* L.) и пшеницу (*Triticum aestivum* L.). Для анализа таксономической структуры микробиоты использовали данные пиросеквенирования (454-секвенирования, Junior, Roche) ампликонных библиотек (созданных на основе выделенной из субстратов ДНК) диагностических фрагментов генов 16S РНК (прокариотная микробиота) и 18S РНК (грибная микробиота) в комбинации с методом количественной ПЦР соответствующих диагностических фрагментов. Показано, что общее количество диагностических фрагментов для прокариот (в пересчете на 1 г субстрата) в почве ( $1,0 \times 10^{10}$ ) больше в два раза, чем в ФМО ( $6,0 \times 10^9$ ). Количество представленных фил домена бактерии в контроле без растений в ФМО составляет 16, а в почве - 10. При этом в ФМО доминируют *Proteobacteria* и *Actinobacteria*, а в почве - *Proteobacteria* и *Verrucomicrobia*. То есть исходные субстраты различались как по количеству, так и по составу прокариотной микробиоты. В почве под растениями бактериальных фил - 13, с доминированием под горохом *Proteobacteria* и *Verrucomicrobia*, под пшеницей - *Proteobacteria* и *Actinobacteria*. В ФМО под горохом доминируют филы *Actinobacteria* и *Proteobacteria*, практически элиминируется фила *Verrucomicrobia*, которая восстанавливает свои позиции под пшеницей, где также доминирует и фила *Proteobacteria*. Общее количество диагностических фрагментов для грибов в почве и в ФМО практически одинаково  $1,5 \times 10^8$  и  $1,3 \times 10^8$ , возрастающая под растениями в 2,7 раза и 3,5 раза, соответственно. Грибная микробиота представлена двумя филлами (*Ascomycota* и *Basidiomycota*) и охарактеризована до уровня «Порядок» (Order). В почве доминируют порядки *Hypocreales* и *Tremellales*, в ФМО - *Hypocreales* и *Glomerellales*. Сходные результаты по структуре микробных сообществ получали и ранее высевом культивируемых микроорганизмов на питательные среды (Звягинцев, 1989; Круглов 1998), применение молекулярно-генетических методов при изучении структуры микробного сообщества, не меняет результаты классического микробиологического анализа почвенной микробиоты. Урожай и гороха, и пшеницы в 2 раза выше в ФМО, чем в почве, что коррелирует с уровнем разнообразия микроорганизмов. Таким образом, важным диагностическим признаком является биоразнообразие микробиоты субстрата.

### С8-03. БИОРАЗНООБРАЗИЕ ЭНДОФИТОВ СЕМЯН ГОРОХА, СПОСОБНЫХ К РОСТУ НА ИСКУССТВЕННЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

Новоселова Н.Н. \*, Ахтемова Г.А., Борисов А.Ю.  
ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии (Санкт-Петербург–Пушкин), Россия  
\*e-mail: nataniika@yandex.ru

Эндофиты выделяли из стеблей и семян гороха, генотипов: J1 2822, VIR 8274 и Триумф. Семена стерилизовали с помощью

70% спирта и гипохлорита натрия. Общее количество выделенных морфотипов эндофитных бактерий – 135. На богатой питательной среде TSA для гетеротрофных микроорганизмов – 4, 17 и 22 (линии J1 2822, VIR 8274 и Триумф, соответственно). На бедной среде для олиготрофных микроорганизмов (1/20 TSA) – 3 и 5 (J1 2822 и Триумф). На селективной среде для олиготрофных микроорганизмов R2A – 4, 3 и 3 (J1 2822 VIR 8274 и Триумф). На селективной среде для *Pseudomonas*, среде Кинга – 2 и 2 (J1 2822 и VIR 8274). На селективной среде для *Bacillus* – МПА с глицерином – 8, 2 и 8 (J1 2822, VIR 8274 и Триумф), на среде для выделения грибов, среде Кинга – 4 (Триумф). Морфотипирование выделенных культур микроорганизмов проводилось визуальным наблюдением. Рост-стимулирующая активность оценивалась по стимуляции роста корневой системы кресс-салата (*Lepidium sativum* L.). Из 70 исследованных изолятов активность показали 11. Фунгицидная и фунгистатическая активность бактериальных изолятов определялась на грибах: *F. sporotrichiade*, *A. alternata*, *F. gramineum*. Из 7 оцененных изолятов противогрибную активность проявили 2. Физиолого-биохимическая характеристика выделенных бактерий проводилась на синтез ауксиноподобных веществ на питательной среде с добавлением L-триптофана и реактива Сальковского, из 50 изолятов активность показали два. Таким образом, продемонстрировано присутствие бактериальных эндофитов способных к росту на искусственных питательных средах в семенах гороха и показана зависимость их состава от генотипа растений и/или условий выращивания.

### С8-04. ПОВЫШЕНИЕ СИМБИОТИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЗЕРНОБОБОВЫХ КУЛЬТУР

Наумкина Т.С. \*,<sup>1</sup>, Зотиков В.И. <sup>1</sup>, Борисов А.Ю. <sup>2</sup>,  
Штарк О.Ю. <sup>2</sup>, Громова Т.Н. <sup>1</sup>, Глазков А.В. <sup>1</sup>, Наумкин В.В. <sup>3</sup>  
<sup>1</sup>ГНУ Всероссийский НИИ зернобобовых и крупяных культур  
Россельхозакадемии (Орел), Россия;  
<sup>2</sup>ГНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии  
Россельхозакадемии (Санкт-Петербург–Пушкин), Россия;  
<sup>3</sup>ФГБОУ ВПО Орловский государственный аграрный  
университет (Орел), Россия  
\*e-mail: t.naumkina@gmail.com

Способность бобовых культур формировать симбиозы с полезными почвенными микроорганизмами – клубеньковыми бактериями (азотфиксирующий симбиоз), почвенными грибами *Glomeromycota* (арбускулярная микориза), ростстимулирующими ризосферными бактериями (*PGPR – plant growth-promoting rhizobacteria*) позволяет растениям существенно обогащать почву азотом, улучшать водный статус растений, снабжать их необходимыми элементами минерального питания, повышать устойчивость к болезням. В 2009-2012 гг. в полевых условиях была проведена оценка отзывчивости 56 исходных родительских сортов и гибридов ( $F_2 - F_6$ ) гороха, созданных с использованием селекционного материала из Вашингтонского аграрного университета (USDA, Pullman, WA, USA), и 20 сортов и линий фасоли на применение нового комплексного микробиологического удобрения БисолбиМикс (патент РФ №2318784), содержащего штаммы вышеназванных микроорганизмов, технология производства и применения которого разработана во ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии (Санкт-Петербург–Пушкин). Установлено, что предпосевное внесение в почву комплексного микробиологического удобрения повышало семенную продуктивность на 11,5 – 30,0% и симбиотическую активность в 1,2-1,5 раза у гибридов гороха X05MP017-0-0/PS810240/BLUERBIRD, X06MP017-0-0/PS810240/BLUERBIRD, X05MP028-0-0/PS810765/PS7101044, X06MP028-0-0/PS810765/PS7101044, X02MP060-0-0/PS0010806/REX, X02MP154-A-0/

PS810765/TRIUMPH, X02MP149-A-0/PS810240/SCYTHIAN, X02MP244-A-0/TRIUMPH/FRANKLIN, X02MP157-A-0/VIR1693/FRANKLIN. Выделена перспективная селекционная линия фасоли л.2-10 (*Kanamito* x Рубин) на 24,0% превосходящая по урожайности контрольный вариант без обработки и на 32,7% стандарт Рубин. Таким образом, применение препарата БисолбиМикс позволяет вести селекцию сортов зернобобовых культур нового типа – эффективно использующих взаимодействия с благотворной для растений микрофлорой.

#### С8-05. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ УСТОЙЧИВОСТИ ГОРОХА ПОСЕВНОГО К КАДМИЮ

Кулаева О.А. \*, Цыганов В.Е.

ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: koa1983@yandex.ru

Одним из факторов, оказывающих существенное влияние на большинство растительных организмов, является присутствие кадмия в почве. В ответ на действие токсичных веществ у растений начинается запуск специальных адаптивных механизмов. Несмотря на большое количество исследований влияния кадмия на растения, еще много вопросов остается неизученными. До сих пор сложно ответить на вопрос может ли один ген контролировать как возникновение устойчивости, так и изменения в транспорте кадмия. Мало изученными остаются вопросы, связанные с передачей сигналов о стресс-факторе, экспрессией определенных групп генов и последующим синтезом белков. Для понимания механизмов устойчивости растений к кадмию в ГНУ ВНИИСХМ на основе растений гороха линии SGE был получен мутант гороха SGECD<sup>1</sup>, который характеризуется повышенным уровнем накопления кадмия и устойчивостью к данному тяжелому металлу. Мутант SGECD<sup>1</sup> был охарактеризован как имеющий моногенное наследование и рецессивное проявление фенотипа. Мутация *cdt* была локализована в VI группе сцепления гороха. С использованием синтенин участков генома гороха и *Medicago truncatula* был разработан набор геноспецифичных маркеров, позволивших картировать гомолог локуса *cdt* в пределах фланкирующих маркеров *EX* (Medtr2g019210) и *PTP* (Medtr2g018820) у *M.truncatula*. С использованием разнообразных подходов нами было показано, что устойчивость мутанта SGECD<sup>1</sup> проявляется на молекулярном, цитологическом и тканевом уровнях организации растительного организма. Мутант SGECD<sup>1</sup> и исходная линия SGE значительно отличаются по характеру проявления защитных механизмов, возникающих в ответ на действие кадмия. Нами были клонированы два гена гороха посевного, играющих ключевую роль в формировании устойчивости к кадмию у растений: *PsPCS* (кодирующий фитохелатинсинтазу) и *PsABCC1* (кодирующий переносчик комплексов фитохелатинов с кадмием). Экспрессия обоих генов усиливается при действии кадмия, особенно в побеговой части растений как линии SGE так и мутанта SGECD<sup>1</sup>. В настоящее время нами проводится сравнительный анализ транскриптомов корней мутанта SGECD<sup>1</sup> и исходной линии SGE. После обработки растений кадмием в корнях исходной линии SGE выявляется в 4 раза больше последовательностей с измененной экспрессией, по сравнению с мутантом SGECD<sup>1</sup>. Сравнение транскриптомов корней двух линий, обработанных кадмием, позволит оценить вклад различных адаптивных механизмов на формирование устойчивости у мутанта SGECD<sup>1</sup>. Данная работа была финансово поддержана грантом Президента РФ (МК-5445.2014.4).

#### С8-06. ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЯДРЫШКОВЫХ ОРГАНИЗАТОРОВ ХРОМОСОМ У ХВОЙНЫХ ВИДОВ В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Калашиник Н.А.

Ботанический сад-институт УНЦ РАН (Уфа), Россия

\*e-mail: kalash.ufa@mail.ru, cyto.ufa@mail.ru

Функциональное состояние генов рРНК возможно оценить путем цитологического изучения ядрышек интерфазного ядра, размеры которых находятся в прямой зависимости от степени активности этих генов. Ядрышковая активность оказалась наиболее показательным цитологическим критерием оценки стрессового воздействия на организм при создании шкалы чувствительности для экологического мониторинга, авторами которой являются А.К. Буторина и В.Н. Калаев. Исследования по изменчивости кариотипов хвойных видов из различных частей ареала, в том числе с учетом полиморфизма ядрышкообразующих районов хромосом, достаточно многочисленны. Однако, исследовательские работы по изучению функциональной активности ядрышковых организаторов хромосом у хвойных видов в различных экологических условиях произрастания, в том числе в условиях техногенного загрязнения, практически отсутствуют. В настоящей работе представлены результаты исследования функциональной активности ядрышковых организаторов хромосом на примере трех видов хвойных, произрастающих на территории Южного Урала в условиях промышленного загрязнения различной степени интенсивности в сравнении с контролем. Всего исследовано 29 пробных площадей (ПП), в том числе сосны обыкновенной из 12, ели сибирской из 12, лиственницы Сукачева из 5 местообитаний. В качестве материала для проведения исследований использована меристематическая ткань проростков семян, в качестве методов - общепринятые рекомендации окрашивания ядрышек, адаптированные применительно к хвойным породам. В результате исследований определяли максимальное и среднее число ядрышек на клетку, а также показатели ядерно-ядрышковых отношений. Результаты проведенных исследований показали, что среднее число ядрышек на различных ПП варьирует незначительно, и составляет у сосны обыкновенной 5-6, у ели сибирской из 12, лиственницы Сукачева 2-3 ядрышка на клетку. Максимальное же число ядрышек на клетку составило у сосны обыкновенной 12, у ели сибирской 14, у лиственницы Сукачева 6 ядрышек, причем, наиболее высокие значения этого показателя у всех исследованных видов наблюдается в условиях сильного техногенного загрязнения. В условиях техногенного загрязнения также наблюдаются более низкие значения показателей ядерно-ядрышковых отношений, они на 2-4 единицы ниже, чем в относительно чистых условиях (чем меньше этот показатель, тем больше объем ядрышек), что, несомненно, определяет тенденцию увеличения активности ядрышкообразующей системы хвойных видов в стрессовых условиях, и является подтверждением того, что, именно, ядрышкообразующая система у данных видов является одним из важнейших элементов, с помощью которого осуществляется адаптация организмов в экологически неблагоприятных условиях.

#### С8-07. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПЫЛЬЦЫ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ В КАЧЕСТВЕ ИНДИКАТОРА ВЛИЯНИЯ ГЕРБИЦИДОВ

Звягина А.С. \*, Цаценко Л.В.

Кубанский государственный аграрный университет (Краснодар), Россия

\*e-mail: yatsanmi@mail.ru

Стабильное получение качественных семян растений зависит от качества их зрелой пыльцы, которое во многом определяется нормальным морфогенезом пыльника. У пыльцевых зерен, сформировавшихся из аномальных микроспор, обычно дефектны оболочка и (или) протопласты клеток. Разные показатели качества пыльцы использованы для биоиндикации: фертильность, жизнеспособность, степень дефектности, прорастание на искусственных средах. Объектом исследования была выбрана озимая мягкая пшеница сора Тая (разновидность *lutescens*), которая широко распространена на территории Краснодарского, Ставропольского краях, Ростовской области, республике Адыгея. Гербициды Пума и Секатор использовали в качестве уничтожителя сорной растительности на посевах пшеницы. В качестве тест-системы негативного воздействия пестицидов использовались показатели состояния пыльцы: фертильность и качество пыльцевых зерен, для окраски пыльцы использовали ацетокармин. Для анализа были собраны нераскрывшиеся пыльники пшеницы с обработанных и необработанных гербицидами участков, которые выступали в роли контроля. Затем извлекли пыльцу из пыльников и произвели окрашивание ацетокармином. Пыльцу рассматривали под микроскопом Микрос МС 100 с фотонасадкой и фотоаппаратом Canon A-620 7.1 mega pixels. Увеличение на микроскопе при исследованиях пыльцы было 10x25, 40x65. Изучение пыльцы позволило установить, что клетки стерильной и фертильной пыльцы отличаются по интенсивности окрашивания. У фертильных пыльцевых зерен зернистая цитоплазма и спермии окрашены в густой карминово-красный цвет. Стерильные пыльцевые зерна почти не окрашиваются кармином или окрашиваются неравномерно только на 10-30 %, приобретая слабый практически прозрачный светло-розовый цвет. Полученные результаты позволяют утверждать, что различный уровень стерильности пыльцевых зерен озимой мягкой пшеницы сорта Тая может быть объяснен разной степенью воздействия гербицидов на генеративную систему культуры. Получено, что на контроле, за два года исследований показатель фертильности пыльцевых зерен – 85,6 %, а на обработанных растениях процент стерильности колеблется от 71,0 до 82,7%, что доказывает воздействие гербицидов на репродуктивную систему пшеницы. В результате проведенных исследований было выявлено, что пыльца озимой мягкой пшеницы сорта Тая качественно изменяется при обработке гербицидами, причем процент фертильности снижается, а аномальность пыльцевых зерен возрастает. Это позволяет рекомендовать этот метод в качестве экспресс-оценки влияния гербицидов на репродуктивную систему растений пшеницы.

#### С8-08. ВИДЫ ДИКОРАСТУЩЕЙ ФЛОРЫ КАК УДОБНЫЙ ОБЪЕКТ ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА

*Реутова Н.В.* <sup>\*1</sup>, *Джамбетова П.М.* <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Кабардино-Балкарский научный центр РАН (Нальчик), Россия;

<sup>2</sup>Чеченский государственный университет (Грозный), Россия

\*e-mail: reutova371@mail.ru

Загрязненная среда обитания оказывает как токсическое, так и генетическое влияние на живые организмы. Если токсическое влияние, как правило, легко определимо, то влияние на генетические структуры организма выявить весьма сложно, а его последствия в ряде случаев могут носить отдаленный характер. Аборигенные виды растений на протяжении длительного времени произрастают в условиях исследуемого типа загрязнений. В этом случае будет учтено комплексное влияние всех факторов окружающей среды в условиях длительного воздействия на все фазы развития. В наших исследованиях мы использовали 8 видов растений. Среди них и повсеместно произрастающие, и достаточно редкие виды. Все они оказались вполне пригод-

ными для целей генетического мониторинга и чувствительными как к органическим, так и неорганическим загрязнителям. У всех видов имело место достоверное возрастание уровня аномальных ана/телофаз в загрязненных зонах по сравнению с чистой зоной. Конечно, необходимо иметь индикаторные виды, которые обитают почти повсеместно, чтобы можно было проводить сравнительный анализ результатов. Таким видом, на наш взгляд, является одуванчик лекарственный (*Taraxacum officinale* Wigg. s.l.). Одуванчик лекарственный оказался практически универсальным видом, т.к. цветущие и плодоносящие растения можно встретить на протяжении всего летнего периода, хотя массовое цветение идет в мае, начале июня. Его семена имеют короткий период покоя, прорастают очень быстро и имеют высокую всхожесть. Корешки проростков имеют оптимальную толщину и из них легко готовить давленные препараты хорошего качества. Этот вид оказался чувствительным к разным видам загрязнений (тяжелые металлы, органические загрязнения). Наблюдалась и дозовая зависимость. Поэтому мы предлагаем использовать одуванчик лекарственный как стандартный вид для определения генотоксического влияния окружающей среды. Таким образом, виды дикорастущей флоры являются очень удобным объектом для генетического мониторинга т.к. дают возможность проводить исследования *in situ*; учитывается влияние всего комплекса факторов окружающей среды; они обладают высокой чувствительностью к различным типам загрязнений; не требуется наличия дорогостоящей материальной базы и высококвалифицированного персонала. Имеет место хорошая корреляция с микроядерным тестом на человеке и частотой спонтанных абортос у населения, проживающего на загрязненной территории. Следовательно, результаты, полученные с использованием видов дикорастущей флоры, имеют прогностическую ценность для оценки возможных рисков для здоровья населения, проживающего на загрязненных территориях.

#### С8-09. ИЗУЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ И ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ УСТОЙЧИВОСТИ КЛЕТКИ ЦИАНОБАКТЕРИЙ К БЕТА-N-МЕТИЛАМИН-L-АЛАНИНУ (ВМАН)

*Попова А.А.* <sup>1</sup>, *Елисеева Ю.И.* <sup>2</sup>, *Кокшарова О.А.* <sup>\*2</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной генетики РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва), Россия

\*e-mail: oa-koksharova@ Rambler.ru

Антропогенное влияние на биологические системы приводит к разрастанию популяций фототрофных микроорганизмов в водных экосистемах. Это явление известно как „цветение“ водоемов. Вредоносность массового развития цианобактерий заключается в продуцировании большого числа опасных для здоровья людей и животных сильнодействующих токсинов (цианотоксинов), снижении качества воды, потере полезных для человека свойств водной экосистемы. Не менее важным является фундаментальная проблема исследования процессов формирования и метаболизма цианотоксинов в природе, их функциональной значимости в микробных популяциях. Какую роль играют цианотоксины в жизни самих цианобактерий? Известно, что нейротоксин ВМАН (бета-N-метиламнин-L-аланин), образуемый цианобактериями, связывается с глутаматовыми рецепторами в мозге человека и животных. Подобные рецепторы обнаружены у растений и цианобактерий. Какова роль глутаматового рецептора в клетках цианобактерий? Связывается ли ВМАН с этим рецептором? Какова функциональная значимость этого взаимодействия для бактериальной клетки? С целью изучения роли ВМАН в метаболизме цианобактерий мы инициировали исследование воздействия ВМАН на клетки мутанта азотфиксирующей нитчатой цианобактерии *Anabaena* sp. PCC 7120, лишленно-



го глутаматового рецептора, в сравнении с клетками исходного штамма дикого типа. Для идентификации новых генов и белков, отличных от глутаматового рецептора, и участвующих в контроле устойчивости клеток цианобактерий к ВМАА, мы провели транспозонный мутагенез клеток *Anabaena* sp. PCC 7120 и отобрали 12 мутантов, устойчивых к этому нейротоксину. В настоящее время мы проводим идентификацию генов, поврежденных транспозоном в клетках устойчивых к ВМАА мутантов, с помощью молекулярно-генетических методов исследования. Методы биоинформатики будут использованы для дальнейшего изучения и филогенетического анализа идентифицированных генов.

#### **C8-10. ИЗУЧЕНИЕ МУТАГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ВОДЫ ВОДОЕМОВ ЯРОСЛАВСКОЙ ОБЛАСТИ**

***Ковалева М.И.*** \*, *Прохорова И.М.*, *Фомичева А.Н.*,  
*Ильина К.Г.*, *Тарасова М.А.*, *Дронина М.И.*

ФГБОУ ВПО Ярославский государственный университет  
им. П.Г. Демидова (Ярославль), Россия  
\*e-mail: kovalevamargo@rambler.ru

Одним из наиболее опасных последствий роста промышленного и сельскохозяйственного производства является поступление и накопление в окружающей среде мутагенов - факторов, вызывающих наследственные изменения - мутации. Негативные последствия возникающих мутаций проявляются как у организмов поколения, подвергшегося воздействию, так и у последующих поколений. Для изучения состояния отдельных территорий наиболее часто проводится исследование мутагенной активности воды различных водоемов. Это связано с тем, что, с одной стороны, вода является важнейшим компонентом окружающей среды, с другой стороны, большинство загрязнителей с осадками в конечном итоге оказываются в водоемах. Особенно важно изучение токсикогенетической ситуации в водоемах, которые являются источниками питьевого водоснабжения и рекреационными зонами для больших групп населения. В разные годы в лаборатории генетики ЯрГУ им. П.Г. Демидова проведено исследование пространственной и временной динамики мутагенной активности воды различных водоемов Ярославской области: р. Волга и ее притоков, в том числе р. Которосль, а также высокоэвтрофного оз. Неро. В ходе проведенных исследований были выявлены некоторые особенности, которые следует учитывать при изучении мутагенности воды природных водоемов. Необходимо проводить исследование суммарной мутагенности цельных проб воды, которая отражает мутагенность не отдельных поллютантов, а генотоксическое действие всех компонентов среды с учетом их взаимодействия. Кроме этого, пробы воды надо тестировать сразу после отбора или хранить в замороженном состоянии непродолжительное время, так как при длительном хранении мутагенный эффект проб снижается. При исследовании воды необходимо использовать несколько тестов, так как только в этом случае снижается вероятность ложноотрицательных результатов. При выборе станций отбора проб следует учитывать, что мутагенность воды проточных водоемов претерпевает пространственную изменчивость и зависит от источников поступления мутагенов (антропогенного и природного происхождения). Кроме этого мутагенность воды претерпевает и значительную временную динамику: на одной и той же станции мутагенность может меняться в течении нескольких дней. Наиболее резкие колебания характерны для малых рек с небольшой водностью, протекающих по урбанизированным территориям, особенно в периоды весеннего половодья и осеннего паводка. Поэтому программа отбора проб должна разрабатываться для каждого водоема индивидуально с учетом климатических условий, гидрологического режима и источников поступления мутагенов.

#### **C8-11. ОРГАНОСПЕЦИФИЧНОСТЬ ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НЕСИММЕТРИЧНОГО ДИМЕТИЛГИДРАЗИНА И ЕГО ПРОИЗВОДНОГО В ОРГАНИЗМЕ МЛЕКОПИТАЮЩИХ**

***Ловинская А.В.*** \*<sup>1</sup>, *Колумбаева С.Ж.* <sup>1</sup>, *Абилев С.К.* <sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Казахский национальный университет им. аль-Фараби (Алматы), Казахстан;

<sup>2</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия;

<sup>3</sup>Московский государственный университет (Москва), Россия  
\*e-mail: annalovinska@rambler.ru

К проблемам, связанным с ракетно-космической деятельностью, следует отнести загрязнение окружающей среды отделяющимися частями ракет-носителей, а также токсическими компонентами ракетного топлива (гептил и его производные, азотный тетраоксид и др.). До настоящего времени широко применяется ракетное топливо на основе несимметричного диметилгидразина (НДМГ, гептил). Одним из производных НДМГ в окружающей среде является нитрозодиметиламин (НДМА), который в 10 раз токсичнее самого гептила. В связи с этим, целью настоящего исследования явилось изучение генотоксического действия компонентов ракетного топлива (НДМГ и НДМА) на экспериментальных животных. Объектами исследования явились висцеральные органы (печень, селезенка, легкие, почки) лабораторных мышей линии BALB/cYwal в возрасте 2-3 месяцев. Определение генотоксического действия проводили с помощью щелочной вариации метода ДНК-комет (Дурнев, Жанатаев, 2006). Для интоксикации использовали водные растворы ксенобиотиков, введение осуществляли внутрибрюшинно НДМГ в дозах 13,2 мг/кг и 26,4 мг/кг; НДМА - в дозах 4 мг/кг и 8 мг/кг, время воздействия - 4 часа. В контроле содержание ДНК в «хвосте кометы» составило 1,15±0,07% (легкие), 0,96±0,06% (селезенка), 1,23±0,07% (почки), 1,51±0,06% (печень). При введении животным НДМГ в дозах 13,2 мг/кг и 26,4 мг/кг уровень поврежденной ДНК в клетках достоверно возрос по сравнению с контролем и составил соответственно вводимым дозам 5,61±0,26% и 6,29±0,25% (легкие), 4,56±0,15% и 5,45±0,12% (селезенка), 7,59±0,56% и 8,16±0,62% (почки), 6,53±0,21% и 7,71±0,28% (печень). НДМА в дозах 4 мг/кг и 8 мг/кг также проявил ДНК-повреждающую активность в легких, селезенке, почках и печени, частота которой соответственно составила 6,17±0,18% и 9,12±0,21%; 6,62±0,18% и 12,15±0,19%; 9,97±0,41% и 17,40±0,51%; 10,47±0,35 и 18,92±0,86% ДНК в хвосте кометы. Сравнительный анализ полученных результатов свидетельствует об усилении ДНК-повреждающего действия НДМА у мышей с увеличением дозы. Таким образом, в результате проведенных исследований установлена генотоксичность НДМГ и НДМА, проявившаяся в односторонних разрывах ДНК, а также органоспецифичность к их действию. Работа выполнена в рамках проекта МОН РК ГР № 0112РК00580.

#### **C8-12. ИЗУЧЕНИЕ ОРГАНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ФИПРОНИЛА**

***Орджоникидзе К.Г.*** \*<sup>1</sup>, *Ловинская А.В.* <sup>2</sup>, *Колумбаева С.Ж.* <sup>2</sup>,  
*Полякова Т.В.* <sup>1</sup>, *Абилев С.К.* <sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГУБН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (Москва), Россия;

<sup>2</sup>Казахский национальный университет им. Аль-Фараби (Алматы), Казахстан

\*e-mail: chiris.ordj@gmail.com

Фипронил – чрезвычайно активное соединение и мощный разрушитель центральной нервной системы насекомого. Уникаль-

ный механизм действия фипронила на центральную нервную систему насекомых не имеет аналогов среди других инсектицидов. Он заключается в блокировке гамма-аминомасляной кислотой перемещения ионов хлора по синаптическим каналам, выполняющим ключевую роль при передаче нервного импульса как у позвоночных, так и у беспозвоночных животных. Для оценки органной специфичности фипронила использовали щелочной вариант метода ДНК-комет («DNA-comet assay»), который основан на гель-электрофорезе изолированных клеток. Изучали разрывы ДНК в печени, легких и селезенке мышей. В эксперименте было использовано 25 мышей-самцов линии СВА/J в возрасте 2 месяцев, разделенных на 5 групп по 5 животных в каждой: I - интактные животные; II-III – животные, забиваемые после 6 часов после введения препарата в дозах 1/3LD50 (30,8 мг/кг) и 1/5LD50 (19,2 мг/кг) фипронила; IV-V - животные, забиваемые после 24 часа после введения препарата в дозах 1/3LD50 (30,8 мг/кг) и 1/5LD50 (19,2 мг/кг) фипронила. В ходе исследования выявилось, что при воздействии фипронила при различных дозах и разных сроках в клетках всех исследуемых органов увеличивается количество ДНК в хвосте «кометы», которое является показателем уровня поврежденности ДНК. Отмечено, что в клетках легких и селезенки данный показатель не имел достоверных различий для 6 и 24 часов после введения, тогда как в клетках печени процент нарушения ДНК зависел от времени воздействия. Из данных литературы известно, что основным метаболитом фипронила, обнаруженным в образцах тканей интоксцированных животных (жировая, мышечная ткани, печень, почки, матка), является фипронил-сульфен. Возможно, увеличение нарушений ДНК в клетках печени от времени воздействия, связано с метаболизмом фипронила, который в печени метаболизируется в фипронил-сульфон, обладающий более выраженным гепатотоксическим эффектом. Таким образом, с помощью метода Comet assay показано генотоксическое действие фипронила на органы мышей (печень, легкие, селезенка).

#### С8-13. ГЕНОТОКСИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ НА УЧАСТКЕ РЕКИ КУРАГАНКА В ЧЕРТЕ Г. КУВАНДЫКА ОРЕНБУРГСКОЙ ОБЛАСТИ

*Соловых Г.Н., Кольчугина Г.Ф. \*, Кануникова Е.А., Тихомирова Г.М., Нефедова Е.М., Фабарисова Л.Г.*  
ГБОУ ВПО Оренбургская государственная академия  
Министерства здравоохранения РФ (Оренбург), Россия  
\*e-mail: kolchuginagf@mail.ru

В настоящее время малые реки испытывают на себе негативное влияние антропогенной деятельности, причем наиболее интенсивно используются водные ресурсы малых рек, непосредственно приближенных к промышленному и сельскохозяйственному производству. К одной из таких рек относится Кураганка, экологическое состояние которой зависит от опосредованного антропогенного влияния Южно-Уральского криолитового завода и ряда промышленных предприятий, а также от прямого влияния притока реки Кураганка – реки Блявы. Оценка генотоксичности воды и донных отложений позволяет определить опасные последствия загрязнения водных объектов для здоровья настоящего и будущего поколений, т.к. в этом случае выявляется реальный мутагенный потенциал компонентов водной среды. Материалом исследования являлись вода и донные отложения малой реки Кураганка Оренбургской области, отобранные в мае 2010г. Генотоксичность регистрировалась при наличии мутагенного или митотоксического эффекта или наличия обоих эффектов одновременно. Мутагенная активность изучалась с использованием трех

токсикогенетических тестов: метод учета видимых (генных) мутаций у хлореллы *Chlorella vulgaris*, ана-телофазный метод учета хромосомных aberrаций в меристеме корешков лука *Allium cepa*, метод учета доминантных летальных мутаций у дрозофилы *Drosophila melanogaster* (генные, геномные и хромосомные). Оценка уровня мутагенной активности проводилась по показателю «выраженности мутагенной активности» в баллах. Суммарный мутагенный эффект определялся с помощью показателя «суммарного индекса мутагенной активности». Митотоксическая активность воды и донных отложений оценивалась по нарушению митоза в меристематических клетках А1. сера. Оценка уровня митотоксичности проводилась по показателю «выраженности митотоксической активности» в баллах. Полученные результаты позволили определить генотоксическую ситуацию на участке реки Кураганка в черте г. Кувандыка как неблагоприятную. В воде присутствовали мутагены, индуцирующие генные, хромосомные и геномные мутации, а также митотоксиканты, вызывающие «сильный митозугнетающий эффект» (14 баллов). Аналогичные митотоксиканты содержались и в донных отложениях, митозугнетающий эффект был сильнее (16 баллов). Спектр мутагенов немного уменьшился: в грунтах аккумулировались вещества, индуцирующие генные мутации у *Ch. vulgaris*, а также воздействующие на генеративные клетки *Dr. melanogaster*. Сравнение показателя суммарного индекса мутагенной активности воды (4 балла) и грунтов (2 балла) позволило выявить более высокую степень загрязнения ее мутагенами, что могло свидетельствовать о поступлении поллютантов в реку с тальми водами с прилегающих территорий в весенний период.

#### С8-14. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РАСЧЕТА ИНДИВИДУАЛЬНЫХ НАКОПЛЕННЫХ ДОЗ МЕТОДАМИ ФИЗИЧЕСКОЙ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ ДОЗИМЕТРИИ

*Чередищченко О.Г. \*, Губицкая Е.Г., Битенова М.М.*  
Институт общей генетики и цитологии МОН РК (Алматы),  
Казахстан  
\*e-mail: cherodgen70@mail.ru

Оценка доз у людей, профессионально подвергающихся радиационному воздействию, составляет неотъемлемую часть любой программы радиационной защиты. При этом в настоящий момент нет единого метода, позволяющего достоверно определить индивидуальную накопленную дозу радиации. Расчет доз, полученных методами физической и биологической дозиметрии, зачастую отличаются на порядок. В задачу исследования входило провести расчет индивидуальных накопленных доз радиации у персонала на основе изученных хромосомных aberrаций (ХА) и оценки доз методами физической дозиметрии (определение активности радионуклидов с использованием счетчика излучения человека и определение содержания радионуклидов в моче радиохимическим методом). Цитогенетическое обследование показало, что у персонала частота ХА - ( $3,59 \pm 0,20\%$ ) в 3 раза выше контрольного уровня (п. Таусугур ( $0,87 \pm 0,1\%$ ) ( $p \leq 0,01$ ), наблюдается превышение aberrаций хромосомного типа – маркеров радиационного воздействия в 8 раз. По дигентрикам и центрическим кольцам была рассчитана среднegrupповая накопленная доза радиации, которая составляет приблизительно  $0,045$  Зв. Используя калибровочные кривые «доза-эффект» по общей частоте ХА проведен индивидуальный расчет дозы внутреннего накопленного облучения. При этом если исходить из индивидуальной вариации частоты хромосомных aberrаций (1-8%) доза облучения также варьирует от 0 до  $0,3$  Зв. На основе проведенной оценки доз с помощью ХА и оценки накопленных доз методами физической дозиметрии был проведен сравнительный анализ расчета

индивидуальных доз с использованием данных о полученных персоналом доз ионизирующего излучения за последний год и 5 лет. При изучении индивидуальной изменчивости радиочувствительности показано, что в популяциях человека существует диапазон распределения особей по этому признаку: большая часть характеризуется средней чувствительностью, 14 - 20 % более радиорезистентные, 10 - 20 % - более радиочувствительные. Соотношение когорты обследуемых по критерию радиочувствительности в нашем исследовании распределилось следующим образом: радиочувствительные (11,5%) – средняя радиочувствительность (73,1%) – радиоустойчивые (15,4%). В связи с этим, мы провели корреляционный анализ результатов определения доз методами физической и биологической дозиметрии у людей, характеризующихся средней чувствительностью к действию ионизирующей радиации, при этом исключив радиочувствительных и радиоустойчивых индивидуумов. У людей со средней радиочувствительностью наблюдается достоверная положительная корреляция (0,705;  $n=19$ ,  $\beta \geq 0,999$ ) между величинами доз, определенными по результатам цитогенетического анализа и эффективными дозами, вычисленными на основе прямого и косвенного методов физической дозиметрии.

#### **C8-15. АНАЛИЗ СМЕРТНОСТИ ПОТОМКОВ ОБЛУЧЕННОГО НА РЕКЕ ТЕЧА НАСЕЛЕНИЯ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА РОДИТЕЛЕЙ НА МОМЕНТ ИХ РОЖДЕНИЯ**

**Шалагинов С.А. \*, Тимкова А.В., Аклев А.В.**

*ФГБУН Уральский НПЦ радиационной медицины ФМБА России (Челябинск), Россия*

\*e-mail: annatimgen@rambler.ru

На основе базы данных облученного населения, сформированной в УНПЦ РМ изучалась возможность влияния возраста родителей на 1 630 случаев смертности от естественных причин облученного на реке Теча населения 1950-1985 годов рождения, достигнутых к 2008 году. Стандартизованный показатель смертности потомков облученного на реке Теча населения в группе более старых на момент рождения ребенка родителей (30 и более лет) была несколько выше, чем в группе родившихся от молодых родителей (20-29 лет), составляя 5,00/00 и 4,20/00 ( $p > 0,05$ ) соответственно. Для потомков облученного на реке Теча населения, родившихся от матерей в возрасте 30-34 лет, показатель общей смертности составляет 4,8%, в то время как для потомков, родившихся от матерей в возрасте 35 лет и более – 5,7% ( $p > 0,05$ ). При сравнении показателей смертности потомков облученного на реке Теча населения, имеющих «пожилых» отцов из двух представленных возрастных групп (30-34 и 35 и более), различия достигают уровня достоверности. Показатели смертности в этих группах составляют соответственно 4,4% и 5,8% ( $p < 0,05$ ). В тех случаях, когда мать старше 30 лет, и при этом старше отца, смертность потомков от естественных причин составляет только 4,1%. Если отец старше матери, то смертность достигает 5,2%,  $p < 0,05$ . С увеличением разницы в возрасте отца и матери, смертность потомков от естественных причин последовательно увеличивается от 4,9% в группе потомков, имеющих облученных на реке Теча родителей, в которой отец старше матери на 0,08 – 3 года до 6,5% в группе потомков, имеющих облученных родителей, в которой отец старше матери на 10 и более лет ( $r = 0,98$ ,  $p < 0,001$ ). Таким образом, полученные результаты не противоречат гипотезе о возможном потенцировании действия ионизирующего излучения и возраста родителей на момент рождения (зачатия) ребенка на происхождение дополнительных случаев смертности от естественных причин. Получены данные, указывающие на большую значимость возраста отцов по сравнению с возрастом

матерей. Более надежные результаты могут быть получены при увеличении выборки умерших потомков облученного на реке Теча населения.

#### **C8-16. ИЗУЧЕНИЕ ВКЛАДА ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА В ФОРМИРОВАНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ РАДИОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ГЕНОМА У НАСЕЛЕНИЯ, ПРОЖИВАЮЩЕГО В РАЙОНЕ ДЕЙСТВИЯ БЫВШЕГО СЕМИПАЛАТИНСКОГО ЯДЕРНОГО ПОЛИГОНА**

**Бекманов Б.О. \*, Жунусбекова Б.Б., Муратова Ф.Т., Нуржибек К., Алтынова Н.К., Абылкасымова Г.М., Амиргалиева А.С., Скворцова Л.А., Джансугурова Л.Б., Хусаинова Э.М., Берсимбай Р.И.**

*Институт общей генетики и цитологии КН МОН РК (Алматы), Казахстан*

\*e-mail: bobekman@rambler.ru

Одним из наиболее перспективных направлений радиационной генетики является изучение индивидуальной радиочувствительности человека. Радиочувствительность является индивидуальным признаком, варьирующим от индивида к индивиду в пределах одного вида, что зачастую обусловлено полиморфизмом генов, вовлеченных в реакции организма на действие средовых факторов, таких как ДНК-репарационные гены, гены детоксикации ксенобиотиков, гены контроля клеточного цикла, оксидативного стресса и др. Известным маркером радиационного воздействия является индукция хромосомных мутаций. В нашей работе представлены результаты по анализу ассоциации полиморфизма ряда генов-кандидатов индивидуальной радиочувствительности с частотой хромосомных aberrаций. Материалом для исследований служила коллекция биообразцов, представляющая несколько поколений людей, проживающих на территории действия бывшего Семипалатинского ядерного полигона (490 чел.). В качестве контроля исследована популяция жителей из экологически благополучного региона Алмагтинской области (311 чел.), подобранная в соответствии к облученной группе. Цитогенетический анализ показал, что общая частота мутаций хромосомного и хроматидного типа в облученной популяции более чем в 2,5 раза превышает аналогичные показатели контрольной популяции с выраженной возрастной зависимостью. Генотипирование кандидатных генов радиочувствительности (XRCC1 Arg194Trp и Arg399Gln; XRCC3 Trp241Met; TP53 Arg72Pro; XPD Asp312Asn и Lys751Gln; ATM Asp1853Asn; GSTT1; GSTM1; GSTP1 Ile105Val; eNOS 4a/b) проводили методом ПЦР с последующей рестрикцией амплификатов. Для анализа ассоциации изученных видов полиморфизма с индивидуальной радиочувствительностью в качестве критерия радиационного воздействия рассматривали высокую частоту хромосомных aberrаций (более 3%). В результате показано, что с повышением частоты хромосомных aberrаций достоверно ассоциируются следующие негативные генотипы: XRCC1 Trp194Trp (OR=3,32,  $p=0,07$ ) и Gln399Gln (OR=1,82,  $p=0,07$ ); XRCC3 Met241Met (OR=2,18,  $p=0,04$ ); XPD Asn312Asn (OR=4,08,  $p=0,04$ ) и Gln751Gln (OR=8,00,  $p=0,05$ ); TP53 Arg72Pro (OR=1,36,  $p=0,009$ ); GSTP1 Val105Val (OR=2,38,  $p=0,004$ ) и делеции гена GSTM1 (OR=3,19,  $p=0,00$ ). Полученные результаты позволят выделить группы риска среди населения, проживающего в регионах с повышенным радиационным фоном и лиц, подверженных действию радиации в результате профессионального вреда и улучшить меры профилактики и мониторинга состояния здоровья населения.



### С8-17. ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ХРОМОСОМАХ ДОИМПЛАНТАЦИОННЫХ ЭМБРИОНОВ МЫШЕЙ И КЛЕТОК ЭМБРИОНАЛЬНОЙ КАРЦИНОМЫ F9 ПРИ ДЕЙСТВИИ НИЗКИХ ДОЗ БИСФЕНОЛА А И ДМСО

Грудинина Н.А., Сасина Л.К., Нониашвили Е.М.,

Сучкова И.О., До К., Паткин Е.Л.\*

ФГБУ НИИ Экспериментальной медицины СЗО РАМН

(Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: elp44@mail.ru

Значительное число экотоксикантов, как было показано в последнее время, оказывают повреждающий эффект на взрослые организмы при посредстве эпигеномных и эпигенетических механизмов. К ним относятся такие распространенные токсиканты как бисфенол А и ДМСО. Однако остается неясным какие эпигенетические изменения на уровне хромосом могут быть индуцированы этими агентами в наиболее чувствительный к внешним воздействиям доимплантационный период развития и сравнить с воздействием на стволовые клетки эмбриональной карциномы F9. Эксперименты проводили *in vitro* с добавлением в культуральную среду для зародышей и клеток F9 малых доз указанных агентов как в отдельности, так и совместно. Кроме того, в качестве контроля зародыши мышей культивировали в среде с этиловым спиртом, который служил растворителем БФА. Зародыши культивировали от 2-х бластомеров до стадии бластоцисты в присутствии 0,1% ДМСО, либо 50-100 мкМ БФА, либо 0,2% этанола. Клетки F9 культивировали 24 ч в среде с 0,25- 1 мкМ БФА на 0,02% ДМСО, либо с 0,02% ДМСО. Из контрольных и экспонированных клеток и эмбрионов готовили хромосомные препараты. Далее в препаратах выявляли 5-метилцитозин при помощи моноклональных антител по разработанной нами методике. Те же препараты окрашивали флуорохромом ДАПИ для выявления гетерохроматина. Для детального анализа метилирования ДНК при помощи антител и организации хроматина при помощи окрашивания ДАПИ, а также для исследования их колокализации в хромосомах и ядрах клеток использовали конфокальный ЛСМ «Carl Zeiss LSM 510». Изображения получали при помощи программы LSM 510. Количественный анализ уровня флуоресценции при обоих типах окрашивания определяли при помощи программы ImageJ. DMSO и БФА приводили к остановкам делений дробления и уменьшению числа бластомеров в сравнении с нормой. При этом не наблюдали различий с нормой в уровне и характере распределения гетерохроматина, но наблюдали увеличение метилирования теломерных районов хромосом. На клетках F9 ни ДМСО, ни БФА не вели к замедлению клеточного цикла. Однако увеличивалось число хромосом с асимметрично метилированными сестринскими хроматидами. Увеличился уровень метилирования маркерной метацентрической Rb хромосомы, но уровень флуоресценции при окрашивании ДАПИ статистически значимо не менялся.

Работа поддержана грантами РФФИ №11-04-00254-а и №12-04-00580-а.

### С8-18. КОМПЛЕКСНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НЕФТЕЗАГРЯЗНЕНИЯ НА ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ЗДОРОВЬЕ ДЕТЕЙ

Джамбетова П.М.\*<sup>1</sup>, Сычева Л.П.<sup>2</sup>, Абилов С.К.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Чеченский государственный университет (Грозный), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ НИИ экологии человека и гигиены окружающей среды им. А.Н. Сысина (Москва), Россия;

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

\*e-mail: petimat-lg@rambler.ru

Проведено комплексное эколого-генетическое исследование воздействия загрязнения почвы нефтепродуктами на население, проживающее в непродуцированной сфере с использованием неинвазивных и высокоинформативных методов – кариологического анализа буккальных эпителиоцитов и анализа врожденных морфогенетических вариантов (ВМГВ) у детей, а также сопряженность этих показателей с полиморфизмом 22 генов детоксикации ксенобиотиков, репарации и антиоксидантной защиты. Выявлено повышение частоты всех кариологических показателей буккального эпителия у детей, проживающих на нефтезагрязненных территориях и достоверно высокая зависимость от уровня загрязнения нефтепродуктами, причем доля эпителиальных клеток с микроядрами у детей, проживающих на загрязненной нефтепродуктами территории в 3,3 раза превышает данный показатель у детей, проживающих в условно чистой зоне ( $p=1,3 \cdot 10^{-20}$ ); в меньшей степени зависимость выражена для доли клеток в апоптозе ( $p=2,2 \cdot 10^{-9}$ ); клеток с протрузиями ( $p=1,2 \cdot 10^{-8}$ ); клеток с двумя и более ядрами ( $p=8,1 \cdot 10^{-5}$ ). Анализ значимости вклада генетической изменчивости в наблюдаемый уровень цитогенетических эффектов показал, что частота клеток с микроядрами ассоциирована с носительством мажорных аллелей XPD\*2251T ( $p=0,003$ ), при этом генетическая изменчивость определяет лишь 1,6% изменчивости данного признака, вклад уровня загрязнения составляет 20,6%. Для клеток с протрузиями сопряженность выявлена только с генами OGG1 и CAT ( $p=0,01-0,05$ ). Уровень загрязнения значимо определяет 5,9% изменчивости частоты клеток с протрузиями ( $p=3,5 \cdot 10^{-7}$ ). Частота апоптотных клеток в значительной степени ассоциирована с носительством минорного аллеля XRCC1\*580T ( $p=0,005$ ) с коэффициентом детерминации 1,7%. В то же время уровень загрязнения почвы нефтепродуктами определяет 8,6% изменчивости частоты апоптотных клеток ( $p=3,8 \cdot 10^{-9}$ ). Показано значимое влияние нефтезагрязнения на частоту ВМГВ у детей ( $p=0,0005$ ). При загрязнении менее 25 мкг/кг почвы отмечено среднее значение ВМГВ, характерное для городов со смешанным уровнем загрязнения, а повышение загрязнения нефтепродуктами выше 40 мкг/кг почвы достоверно увеличивает уровень ВМГВ, что дает возможность предполагать влияние нефтепродуктов. Анализ полиморфных вариантов изученных генов показал, что повышение частоты ВМГВ у детей в загрязненных населенных пунктах значимо сопряжено с уровнем загрязнения ( $p=0,002$ ) и носительством минорного аллеля GCLC\*129T ( $p=0,014$ ). Проведенное исследование указывает на ведущую роль загрязнения окружающей среды генотоксичными компонентами нефтепродуктов в образовании как цитогенетических нарушений в клетках буккального эпителия, так и в формировании ВМГВ у детей. Вклад полиморфизма генов в проявлении указанных повреждений значительно меньше.

### С8-19. КАК МОЖНО БОРОТЬСЯ С ЗАГРЯЗНЕНИЕМ ПОЧВЫ НЕФТЕПРОДУКТАМИ

Бекузарова С.А.\*<sup>1</sup>, Вайсфельд Л.И.<sup>2</sup>, Александров Е.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Горский государственный аграрный университет (Владикавказ, РСО-Алания), Россия;

<sup>2</sup>Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН (Москва), Россия

\*e-mail: liv11@yandex.ru

Россия — одна из крупнейших нефтедобывающих стран мира. По разным оценкам, от 1 до 3 % добываемой нефти на нефтепромыслах попадает в окружающую среду, ни один нефтяной промысел нельзя считать безотходным. Степень негативного воздействия загрязнения нефтью на почвенные экосистемы

зависит от природных условий и от состава нефти. При загрязнении нефтепродуктами взаимодействуют факторы: а) поликомпонентность состава нефти, б) гетерогенность экосистемы; в) изменчивость климатических факторов [1]. В России разрабатываются способы восстановления плодородия почв, загрязненных нефтью, для сельскохозяйственного использования. Чаще эти способы сложны и высокзатратны. В данном исследовании предлагается оживить почву, восстановить плодородный слой (гумус), с помощью антиоксиданта пара-аминобензойной кислоты (ПАБК), открытой И.А. Рапопортом [2]. В настоящее время применяют биокомпост, содержащий симбиотическую ассоциацию микроорганизмов (<http://baykal-em.ru/proizvoditeli.html>). Мы предлагаем зараженную нефтью почву орошать раствором ПАБК, растворенной в горячей воде. К этому раствору ПАБК добавляют сладкие листья стевии (*Stevia rebaudiana*), в которых содержатся также антиоксиданты, минеральные вещества, в том числе селен, и витамины. К охлажденному раствору добавляют смесь микроорганизмов Байкал-ЭМ-1 в концентрации 1:100, которые способны к фотосинтезу и фиксации азота и благодаря которым снижается количество углеводов в почве. ПАБК и стевия стимулируют развитие микроорганизмов. Этим раствором орошают зараженную почву. Спустя 2-3 недели высевают амарант (*Amaranthus*). Эта культура богата биологически активными веществами и устойчива к токсичности почвы. Амарант обладает высокими сорбционными свойствами поглощать тяжелые металлы. Растения амаранта опрыскивают раствором ПАБК для повышения их устойчивости к неблагоприятным условиям. В результате содержание нефти в почве в этих опытах снижалось более чем в 2 раза. Принципиальная особенность применяемой технологии в безвредности и даже полезности для человека каждого из компонентов и в минимальных трудовых затратах. Благодаря применению этой технологии в несколько раз ускоряются процессы гумусообразования.

1. Пиковский Ю., Пузанова Т. Экологические проблемы добычи нефти в России. // ТЭК России. 2012. № 1. С. 34–37.

2. Рапопорт И.А. Действие ПАБК в связи с генетической структурой. / Химические мутагены и пара-аминобензойная кислота в повышении урожайности сельскохозяйственных растений. Москва. Наука. 1989. С. 3-37.

#### С8-20. АНАЛИЗ СОПРЯЖЕННОСТИ КАРИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИМФОЦИТОВ И БУККАЛЬНЫХ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ИОНИЗИРУЮЩИХ ИЗЛУЧЕНИЙ В БЫТОВЫХ УСЛОВИЯХ

Мейер А.В.<sup>1</sup>, Синицкий М.Ю.<sup>1</sup>, Толочко Т.А.<sup>1</sup>,

Дружинин В.Г.<sup>\*1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Кемеровский государственный университет (Кемерово), Россия;

<sup>2</sup>Институт экологии человека СО РАН (Кемерово), Россия

\*e-mail: druzhinin\_vladim@mail.ru

С использованием микроядерного теста (МЯ-тест) в буккальных эпителиоцитах (БЭ), а также в лимфоцитах периферической крови (ЛПК), культивируемых в условиях цитокинетического блока, для группы детей и подростков школы-интерната г. Таштагол Кемеровской области ранее установлено наличие гено- и цитотоксических эффектов, связанных с воздействием сверхнормативных (>200 Бк/м<sup>3</sup>) концентраций Rn222 в условиях проживания и обучения. Целью данной работы является анализ сопряженности кариологических показателей лимфоцитов и буккальных эпителиоцитов обследованных. В группу вошли 51 человек (30 мальчиков; 21 девочка), средний возраст составил 11,84±0,35 лет. Для анализа в каждом тес-

те были выбраны 2 группы показателей: цитогенетические и показатели апоптической гибели клеток. В первую группу показателей для МЯ-теста в БЭ вошли частота клеток с микроядрами (МЯ), протрузиями типа «пузырек», «яйцо», а также суммарная частота протузий; для МЯ-теста в ЛПК – частота 2-ядерных клетки с МЯ, протрузиями типа «яйцо» и суммарная частота встречаемости протузий. Во вторую группу показателей для МТ в БЭ были включены клетки с конденсацией хроматина, кариопикнозом, кариорексисом и апоптозными телами; для МТ в ЛПК – общая частота выявления апоптоза на разных стадиях клеточной гибели. Проведенный корреляционный анализ позволил установить наличие слабой положительной корреляции между частотой выявления протузий типа «пузырек» в клетках БЭ и протузий типа «яйцо» в ЛПК (R=0,29;p=0,0408), а также между конденсацией хроматина в БЭ и суммарной частотой выявления апоптоза в ЛПК (R=0,28;p=0,0459). Таким образом, в условиях хронической экспозиции радоном в лимфоцитах периферической крови и в буккальных эпителиоцитах для отдельных показателей цитогенетической нестабильности наблюдаются однонаправленные эффекты воздействия. Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ № 12-04-32218, № 13-06-98014.

#### С8-21. КАСКАДНЫЙ ХАРАКТЕР НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ В ХОДЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ОТБОРА НА ПРИМЕРЕ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Марвин А.М.<sup>\*</sup>, Давиденко К.А., Антосюк О.Н., Марвин Н.А.

Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б.Н. Ельцина (Екатеринбург), Россия

\*e-mail: labor-gen@yandex.ru

Осуществлен длительный направленный отбор (с максимумом 525 поколений) на частоту встречаемости повреждения крыла типа вырезки. В ходе работы использовали ряд межлинейных гибридов, в основе которых применялась мутантная линия *vestigial* (vg. II-67.0). В ходе длительного отбора периодически осуществлялся анализ динамики генетической ассимиляции с использованием ряда показателей. Анализировалась частота встречаемости повреждения крыла типа «вырезка» и ее пространственная характеристика. Жизнеспособность (общая и средняя плодовитость, частота встречаемости эмбриональных и постэмбриональных леталей). Генотипический состав изучаемой экспериментальной популяции мух. Морфометрия крыла по 25 показателям с последующим дискриминантным анализом. Все это вместе взятое позволяет проследить в ходе длительного направленного отбора как динамику генетической ассимиляции, так и картину изменения генотипического состава изучаемых нами линий межлинейных гибридов. Именно это и позволило установить в ходе отбора появление спонтанно возникшей мутации *scalloped* (sd I) практически во всех наших восьми линиях межлинейных гибридов. Наличие мутантных особей *scalloped*, частоты встречаемости которых в наших линиях возрастала в ходе эксперимента. Было подтверждено в опытах по секвенированию соответствующего локуса. У разных межлинейных гибридов были прослежены разные аллели этого гена. Необходимо отметить, что у ряда родительских форм, и в первую очередь у мутантной линии *vestigial* присутствие мутантных аллелей гена *Scalloped* методом секвенирования не прослежено. Все это вместе взятое позволяет сделать вывод о наличии в нашей модельной системе направленной наследственной изменчивости. Эта направленная наследственная изменчивость носит каскадный характер и отражает тем самым специфику ее появления. В основе такой каскадности, наряду с другими факторами определяющими ее специфику, главную роль определяет каскад-

ность в реализации «программы развития» в ходе формирования крыла. В данном случае речь идет о генной регуляторной сети, когда на уровне наших экспериментов один из главных элементов этой сети ген *Scalloped* функционально связан с транскрипционным фактором *Vestigial*. Именно это, согласно нашей гипотезе, лежит в основе наблюдаемой нами наследственной изменчивости на уровне гена *Scalloped*. Что же касается процесса мутирования гена *Scalloped* на уровне различных аллельных состояний, а так же мутирования других генов, прослеживаемых в ходе каскадности и зафиксированных в наших исследованиях, то согласно нашей гипотезе речь идет о специфической роли МГЭ. Согласно нашей гипотезе активность мобильных генетических элементов усиливается в ходе направленного отбора за счет инбридинга и генетического стресса. Именно это и приводит к мутированию соответствующих генов в ходе каскадной реализации генетической программы.

#### **С8-22. ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ТЕХНОГЕННО НАРУШЕННЫХ ТЕРРИТОРИЙ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

**Бигалиев А.Б. \***, **Кобзенова С.С.**, **Бекманов Б.О.**,  
**Шаметов А.К.**, **Иментай А.К.**, **Кожжахметова А.Н.**  
Казахский национальный университет им. Аль-Фараби  
(Алматы), Республика Казахстан  
\*e-mail:aitkhazha@gmail.com

В условиях антропогенного воздействия происходит деградация природных ландшафтов, оскудение биоты, нарушаются исторически сложившиеся биоценотические связи. Нами в течение последних 20 лет проведена оценка влияния антропогенных факторов на биоту и здоровья населения техногенно-нарушенных территорий Республики Казахстан. Путем тестирования на грызунах районов, прилегающих к Семипалатинскому испытательному ядерному полигону (СИЯП) были выявлены аберрантные по окраске морфы водяных полевков (формы-меланисты) которые являются гомозиготными по рецессивному аллеломорфу более устойчивые к деградации. Цитогенетический мониторинг населения Казахстана Карагандинской, Семипалатинской, Атырауской, Актыубинской областей показал влияние радиации и других повреждающих факторов на наследственный аппарат. В указанных районах исследований наблюдали различные отклонения в структуре популяций исследуемых видов, в том числе также на организменном (морфологическом) и генетическом (хромосомном) уровнях. Так, в зоне действия промышленных предприятий обнаружены морфозы у земноводных и грызунов. у них выявляются опухолевые образования. Хромосомные нарушения с большой частотой отмечали на остромордой лягушке, обитающей в районе сбора сточных вод на озерной лягушке и на речной превышающие таковые по сравнению с контролем в 2-3 раза. Обследование населения прилегающих к Семипалатинскому ядерному полигону выявила из 201 детей 81 – с перинатальным поражением нервной системы, 70 детей – с врожденными пороками развития и 50 здоровых детей, которые составили контрольную группу. Частота клеток с абберациями хромосом составляет в среднем 2,4 %, а частота аббераций на клетку составляет 0,0246. Цитогенетический мониторинг казахстанской зоны Каспия показал частота клеток с нарушениями хромосом, индуцированных нефтью у животных (грызуны) примерно в 1,5-2 раза выше по сравнению с контрольной группой. Отмечается индукция гиподиплоидных клеток, частота которых значимо превышает контроль, а также выявляются гипердиплоидные и полиплоидные клетки. Аналогичные результаты были получены при анализе

хромосом рыб, отловленных в прибрежной зоне Каспия. Молекулярно-генетические исследования на грызунах и гидробионтах показали при расщеплении хромосомных ДНК эндонуклеазами рестрикции образуются отчетливо видимые фрагменты определенной длины, позволяющие судить о нарушениях генома исследуемых животных. При ПЦР анализе ДНК-спектров рыб Каспия с разным уровнем загрязнения были обнаружены полиморфные ДНК, а мономорфные ДНК отсутствовали. Выявлен фрагмент ДНК, длиной 300 п.н., который обнаружен у всех исследованных особей (100%-ая частота встречаемости). Такая ДНК отличается от полиморфной, рассматривается как проявление генетического мономорфизма на уровне ДНК. Выявлены особенности ДНК-спектров исследованных рыб и полихет в исследованных районах. На полихетах обнаружен уникальный ДНК-фрагмент у особей, обитающих в более загрязненной местности. В опытах на *D. melanogaster* установлена индукция генных (видимых) мутаций в зависимости от дозы нативной нефти.

#### **\*С8-23. ИЗУЧЕНИЕ КАРИОЛОГИЧЕСКИХ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИМФОЦИТОВ ЛИЦ, ПОДВЕРГАЮЩИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ МАЛЫХ СВЕРХНОРМАТИВНЫХ ДОЗ РАДИАЦИИ ОТ РАДОНА**

**Волобаев В.П. \***<sup>1</sup>, **Синицкий М.Ю. <sup>1</sup>**, **Дружинин В.Г. <sup>1,2</sup>**  
<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Кемеровский государственный университет  
(Кемерово), Россия;  
<sup>2</sup>Институт экологии человека СО РАН (Кемерово), Россия  
\*e-mail: kitsuneoni42@gmail.com

В настоящее время в связи с развитием урбанистического общества, перед человечеством остро встает вопрос о хроническом влиянии на человека малых доз ионизирующих излучений. Цель работы – изучение некоторых кариологических и цитогенетических показателей периферической крови в когорте подростков, подвергающихся длительному воздействию повышенных доз ионизирующего излучения от радона. Материалом исследования послужили образцы периферической крови подростков, экспонированных радоном (60 человек – г. Таштагол). Замеры уровня радона в помещениях школы-интерната показали почти пятикратное превышение ПДК. В качестве контрольной группы были выбраны 60 человек, проживающих в с. Зарубино Кемеровской области (средний уровень радона в месте постоянного жительства составил 200 Бк/м<sup>3</sup>). Окрашивание ядрышек проводили раствором азотнокислого серебра. При микроскопировании препаратов (60 лимфоцитов на препарат) учитывали количество и размер ядрышек. Для оценки цитогенетических показателей использовали микроядерный тест с цитохалазином Б (Fenech 2000). Для исследованных групп, в ходе выполнения работы, показано, что под воздействием ионизирующего излучения уменьшается число лимфоцитов с одним ядрышком (с 87% до 73%) и увеличивается число лимфоцитов с двумя (с 12% до 19%) и тремя ядрышками (до 4%) (p<0,05). Похожие данные были получены при исследовании крови у ликвидаторов аварии на ЧАЭС (Ибрагимова 2001). Оценка уровня МЯ в двуядерных лимфоцитах показала достоверное превышение данного показателя в экспонированной группе по сравнению с контролем на уровне p<0,001 (0,6% vs. 0,3%). Кроме этого, в экспонированной группе было отмечено превышение общего количества микроядер (358 vs. 202). Используемые нами методики, могут послужить удобными биологическими тест-системами оценки негативного хронического воздействия малых доз ионизирующего излучения на организм человека.



**\*С8-24. ФЕНОТИПИЧЕСКАЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СИМБИОТИЧЕСКИХ МУТАНТОВ ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM* L.)**

***Федорина Я.В.*\*, *Штарк О.Ю.*, *Жернаков А.И.*, *Жуков В.А.*, *Борисов А.Ю.*, *Тихонович И.А.***

ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии

(Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: f.jaroslava@gmail.com

Бобовые растения (семейство Fabaceae) способны вступать в симбиотические взаимодействия с грибами арбускулярной микоризы отдела Glomeromycota, с клубеньковыми бактериями семейства Rhizobiaceae, и другими полезными ризосферными бактериями. Изучение симбиотических генов, контролирующих такие взаимодействия, представляет собой актуальную задачу современной биологии. Мутационный анализ является мощным инструментом для изучения растительных симбиотических генов, их структуры и функций. На горохе посевном получена обширная коллекция мутантов с нарушениями различных стадий развития симбиозов, изучение которых проводится в лаборатории уже более 20 лет. В работе проведена генетическая локализация генов гороха (*Pisum sativum* L.), вовлеченных в развитие азотфиксирующего симбиоза. Проведена точная генетическая локализация симбиотических генов гороха *Sym5*, *Sym13*, *Sym14*, *Sym16* с помощью ген-специфичных маркеров. На основании анализа литературных данных о симбиотических мутантах люцерны слабоусеченной (*Medicago truncatula* Gaertn.) были подобраны гены-кандидаты на роль гена *Sym14* гороха (Medtr1g088480 и Medtr1g084990). В коллекции симбиотических мутантов гороха проведен поиск линии, несущей мутацию в гене, гомологичном гену LjSST1 лядвенца японского (*Lotus japonicus* (Regel.) Larsen). Выявлено, что линия гороха RisFixN несет нуклеотидную замену G→A в 8 экзоне гена PsSST1, приводящую к замене аминокислоты G458D в предполагаемой последовательности белка. Фенотип мутантных растений гороха (белые клубеньки) отличается от фенотипа мутантов лядвенца (розовые, рано стареющие клубеньки), что может указывать на отличие функций ортологичных симбиотических генов у растений с менее продвинутой (*Lotus japonicus* (Regel.) Larsen) и более продвинутой (*Pisum sativum* L.) структурой азотфиксирующих клубеньков.

Работа выполнена при поддержке Совета по грантам Президента РФ (НШ-337.2012.4), Министерства образования и науки (соглашения No. 8056 и No. 8109) и РФФИ (12-04-01687-а, 12-04-32126\_мол-а, 13-04-01702-а и 13-04-01703-а).

**M8-01. МУТАНТ ЛЮЦЕРНЫ ХМЕЛЕВИДНОЙ (*MEDICAGO LUPULINA* L. VAR. *VULGARIS* Koch) ОБРАЗУЕТ НЕЭФФЕКТИВНУЮ ДИСТРОФНУЮ МИКОРИЗУ ARUM-ТИПА С ГРИБОМ *GLOMUS INTRARADICES***

***Куренков А.А.*, *Полтева О.В.*, *Якоби Л.М.*, *Юрков А.П.*\***

ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: yurkovandrey@yandex.ru

Арбускулярная микориза (АМ) – широко распространенный в природе мутуалистический симбиоз растений с грибами отдела Glomeromycota. Говоря о роли АМ в жизни растений, в первую очередь, отмечают ее положительное влияние на фосфорное питание фитосимбионта. Несмотря на значительные успехи в изучении АМ, до конца не выяснены механизмы ее эффективности. В настоящем исследовании впервые использованы новые модельные объекты, полученные авторами: (1) сильномикотрофная линия MIS-1 люцерны хмелевидной (получена посредством индивидуального

отбора из примитивного сорта ВИК-32; в условиях низкого уровня доступного для растений фосфора (Рд) в почве без микоризы линия имеет признаки карликовости – тонкий укороченный стебель, слабое/полное отсутствие бокового ветвления, мелкую листовую пластинку; гипер-отзывчива на инокуляцию грибом *Glomus intraradices*, образуя микоризу Arum-типа; хорошо отзывается на внесение фосфорного удобрения – способна к автотрофному фосфорному питанию); (2) полученный на линии MIS-1 посредством мутагенеза этилметансульфонатом мутант III-1-18 с признаками карликовости (отобран из популяции мутагенизированных растений M2, высаженных на почву с низким Рд и инокулированных грибом *G. intraradices*; признак карликовости стабильно наследовал в ряду поколений до M9, включительно; на почве с внесением фосфорного удобрения способен к автотрофному питанию). Фенотипическое исследование развития микоризы растений показало, что встречаемость АМ на 55 сут от посадки у мутанта была значительно ниже (замедленная скорость развития), чем у линии MIS-1: 38% и 68%, соответственно. В сравнении с MIS-1 мутант характеризовался более низким обилием везикул – незрелой АМ и почти полным отсутствием внекорневых гиф – дистрофностью АМ. Эффективность микоризы мутанта по накоплению сухой надземной массы составила +16%, а по содержанию фосфора в надземной массе – +10%, против +241% и +103% у исходной линии, соответственно. Значит, АМ мутанта была неэффективна и сопровождалась блокированием роста надземных частей и корней в условиях низкого Рд в почве. Инокуляция штаммом 1760 *Sinorhizobium meliloti* показала, что мутант образует клубеньки идентичные клубенькам исходной линии MIS-1, а значит, мутация специфична для АМ в условиях низкого Рд в почве. Таким образом, мутант III-1-18 и исходная линия MIS-1 являются ценными модельными объектами для изучения механизмов, регулирующих эффективность АМ. Исследования поддержаны грантом Президента РФ МК-5964.2013.4.

**M8-02. *VAVILOVIA FORMOSA*: НОВАЯ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЭВОЛЮЦИИ БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА**

***Кимеклис А.К.*\*<sup>1</sup>, *Сафронова В.И.*<sup>1</sup>, *Белимов А.А.*<sup>1</sup>, *Чижевская Е.П.*<sup>1</sup>, *Пинаев А.Г.*<sup>1</sup>, *Проворов Н.А.*<sup>1</sup>, *Пушаев А.Е.*<sup>2</sup>, *Попов К.П.*<sup>3</sup>, *Андронов Е.Е.*<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ГНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии (Пушкин), Россия;

<sup>2</sup>Горский государственный аграрный университет (Владикавказ), Россия;

<sup>3</sup>Северо-Осетинский государственный природный заповедник (Алагир), Россия

\*e-mail: kimeklis@gmail.com

Бобово-ризобиальный симбиоз – один из наилучших объектов для изучения коэволюционных процессов. Особенность этого симбиоза состоит в наличии четко координированной системы передачи молекулярных сигналов между партнерами, обеспечивающей строгую специфичность данного взаимодействия. К настоящему времени идентифицированы основные гены ризобий, участвующие в синтезе ключевой сигнальной молекулы - Nod-фактора, так же как и гены растительных рецепторов, взаимодействующих с ризобиальным сигналом. Специфичность симбиоза служит основой для выделения так называемых «групп перекрестной инокуляции» растений. Одну из таких групп составляют бобовые, принадлежащие к трибе *Fabeae*: рода *Vicia*, *Lens*, *Lathyrus* и *Pisum*, которые вступают в симбиоз с бактериями вида *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*. Относящийся к этой трибе род – *Vavilovia*, единственным представителем которого является реликтовое бобовое растение *Vavilovia formosa* (Stev.) An. Fed. – считается наиболее

близким к общему предку горохов. Вавиловия практически не культивируема и не образует клубеньки в микровеgetационных лабораторных опытах. Мы выделили из клубеньков вавиловии, собранных в Северной Осетии и Армении, штаммы, относящиеся к виду *R. leguminosarum* bv. *viciae*. Кроме того, в клубеньках Осетинской популяции были обнаружены ризобии, наиболее близкие родам *Bradyrhizobium*, *Bosea*, *Rhodopseudomonas* и *Phyllobacterium*, а в Армянской популяции – роду *Tardiphaga*. В результате микровеgetационного опыта с выделенными штаммами вида *R. leguminosarum* bv. *viciae* на горохе образовывались клубеньки фенотипа fix<sup>-</sup>. У всех штаммов *R. leguminosarum* bv. *viciae*, выделенных из клубеньков вавиловии, в геноме обнаружен ген *nodX*, ответственный за ацетилирование Nod-фактора, характерного для ризобий, способных образовывать клубеньки на симбиотически специализированных афганских линиях гороха, несущих аллель *sym2<sup>4</sup>*. Такую аллель удалось выявить в геноме вавиловии, хотя она отличится от традиционной афганской аллели. Полученные данные позволяют считать Вавиловию переходной формой от широкоспецифичных эволюционно примитивных видов бобовых к симбиотически специализированным формам, к числу которых относятся горох и вика. Механизмы поддержания широкой симбиотической специфичности вавиловии в сочетании с наличием аллели *sym2<sup>4</sup>* представляют большой интерес для изучения генетических механизмов эволюции симбиоза. Можно предположить, что приобретение аллели *sym2<sup>4</sup>* – это первый шаг к сужению симбиотической специфичности бобовых растений.

#### M8-03. ВЫЯВЛЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕХАНИЗМОВ СТАРЕНИЯ СИМБИОТИЧЕСКОГО КЛУБЕНЬКА ГОРОХА (*PISUM SATIVUM* L.)

Серова Т.А.\*, Цыганов В.Е.

ГНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии РАСХН (Санкт-Петербург), Россия

\*e-mail: t\_serova@rambler.ru

В последние годы интенсивно изучается процесс старения симбиотических клубеньков бобовых, поскольку увеличение периода активной фиксации азота и, следовательно, увеличение содержания симбиотического азота в растениях, могло бы оказать положительный эффект на насыщение почвы биологическим азотом и повышение урожайности возделываемых культур. В работе была использована исходная линия Sparkle и полученный на ее основе мутант E135f (*sym13*), характеризующийся преждевременной деградацией симбиотических структур, т.е. фенотипом раннего старения клубеньков; родительская линия Sprint-2 и полученный на ее основе мутант Sprint-2Fix- (*sym31*), характеризующийся недифференцированными бактериоидами и отсутствием морфологических признаков деградации симбиотических структур; и двойной мутант RBT (*sym13*, *sym31*), характеризующийся сходным фенотипом с линией Sprint-2Fix- (*sym31*). Для анализа уровня экспрессии маркерных «генов старения» был проведен ПЦР анализ в режиме реального времени. В качестве маркерных «генов старения» были выбраны гены цистеиновых протеаз (*PsCyp1*, *PsCyp15a*) и тиоловой протеазы (*PsTPP*), продукты которых участвуют в масштабной деградации белка; ген фактора транскрипции bZIP (*PsATB2*), экспрессия ортолога которого повышается у *Medicago truncatula* в ходе старения клубенька; ген гиббереллин 2-β-оксидазы (*PsGAOx2*), деактивирующей гиббереллиновую кислоту, гены 1-аминоклопропан-1-карбоксилат оксидазы (*PsACO1*) и альдегид оксидазы 3 (*PsAO3*), кодирующие ферменты синтеза этилена и абсцизовой кислоты, соответственно. С увеличением возраста клубеньков наблюдалось повышение уровня мРНК анализируемых маркерных «генов старения» как у родительских линий, так и у всех исследуемых симбиотических

мутантов гороха. При этом в случае мутанта E135f (*sym13*) наибольший уровень экспрессии всех проанализированных генов, значительно превосходящий уровень экспрессии в клубеньках исходных линий, наблюдался на четвертой неделе после инокуляции, соответствующей максимуму азотфиксации у дикого типа. У мутанта Sprint-2Fix- (*sym31*), в 4-х недельных клубеньках было показано повышение экспрессии генов *PsCyp15a*, *PsTPP*, *PsGAOx2*, *PsACO1*, *PsAO3*, а в 6-ти недельных – генов *PsCyp1* и *PsATB*, что свидетельствует о протекании процессов старения у данной мутантной линии. Таким образом, показана позитивная регуляция процесса старения симбиотического клубенька гороха этиленом, абсцизовой кислотой и транскрипционным фактором bZIP, негативная регуляция гиббереллиновой кислотой, а также активная роль в старении цистеиновых и тиоловой протеаз. Работа поддержана грантами Президента РФ (НШ-4603.2014.4) и РФФИ (14-04-00383).

#### M8-04. ХРОМОСОМНЫЕ ITS ЛИНИИ ПРИРОДНЫХ ШТАММОВ *SINORHIZOBIUM MELILOTI* – СИМБИОНТОВ РАСТЕНИЙ ТРИБЫ КЛЕВЕРНЫХ РАЗЛИЧНОГО ФЕНОТИПА ПО СОЛЕУСТОЙЧИВОСТИ

Мунтян В.С.\*, Мунтян А.Н., Румянцева М.Л.,

Симаров Б.В.

Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии РАСХН (Санкт-Петербург, Пушкин), Россия

\*e-mail: vucovar@yandex.ru

Полиморфизм *gts-rrl* рибосомальных оперонов (межгенная последовательность, ITS) изучен у 81 изолята *Sinorhizobium meliloti* из коллекции лаборатории генетики и селекции микроорганизмов ВНИИСХМ с применением видоспецифичных праймеров FGPS1490/FGPL132VM. Изоляты были выделены из клубеньков разных видов дикорастущих растений-хозяев, относящихся к родам *Medicago*, *Melilotus* и *Trigonella*, произрастающих в засоленном северо-западном районе Казахстана. Структура ITS, характерная для штамма Rm1021, являлась доминирующей в природной популяции ризобий, однако у трети изолятов (33.3%) эти последовательности были дивергентными. Структура дивергентных ITS, выявленная у АК83 (RCAM00182), была также доминирующей. Между изолятами, различавшимися по устойчивости к 0,6M NaCl, не выявлено филогенетических различий, однако частоты встречаемости дивергентных ITS у фенотипически различных групп ризобий зависели от хозяйской предпочтительности при формировании симбиоза в естественных условиях. Таким образом, показано, что в популяции клубеньковых бактерий в центре интрагессивной гибридизации люцерны, подверженном засолению, происходят микро-эволюционные процессы, затрагивающие *gts*-опероны и направленные на изменение адаптационного потенциала микросимбионтов.

#### M8-05. ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СЕМЕННОГО ПОТОМСТВА СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*PINUS SYLVESTRIS* L.) В ГОДЫ, РАЗЛИЧАЮЩИЕСЯ ПО ТИПАМ ЗАСУХ

Пардаева Е.Ю.\*, <sup>1,2</sup>, Машикина О.С. <sup>1,2</sup>, Попов В.Н. <sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Воронежский государственный университет (Воронеж), Россия;

<sup>2</sup>ФГБУ Всероссийский НИИ лесной генетики, селекции и биотехнологии (Воронеж), Россия

\*e-mail: elena.pardaeva@mail.ru

Глобальное потепление климата привело к увеличению числа засух в центральной части России. Так, за последние 20 лет в

Воронежской области отмечено шесть засух разной силы (1991, 1995, 2001, 2007, 2010 и 2012 гг.). У растений, размножающихся семенным путем, наиболее чувствительна к засухе генеративная сфера. Также известно, что засушливые годы являются наиболее информативными для исследования, диагностики и отбора засухоустойчивых форм. Цель работы: провести сравнительный цитогенетический анализ семенного потомства деревьев сосны обыкновенной в аномально засушливые годы (2010 и 2012), различающиеся по срокам, протяженности и силе гидротермического стресса, для выбора информативных цитогенетических показателей для оценки стабильности генома и проведения мониторинговых исследований. Семенной материал заготавливали с семи фенотипически нормальных деревьев, произрастающих на модельном объекте «Острогжск» (экологически благоприятная территория, Воронежская обл.). Анализировали 13 цитогенетических показателей, характеризующих митотическую и ядрышковую активность, частоту и спектр патологий митоза (ПМ), долю клеток с микроядрами в корневой меристеме проростков. Установлено, что весенняя засуха 2012 г. (совпавшая по времени с фазой оплодотворения у сосны) оказала более неблагоприятное воздействие на генеративную сферу по сравнению с летней засухой 2010 г. (загнущившей конец раннего и поздний эмбриогенез, т.е. более устойчивые к стрессорам стадии - развитие семян). На клеточном уровне это проявилось в снижении митотической активности в 2 раза; повышении уровня ПМ в 1,3 раза; доли метафаз и ана-телофаз митоза с нарушениями в 1,4 раза; доли клеток с хромосомными aberrациями в 2,3 раза; доли клеток с микроядрами в 2,5 раза; среднего количества ядрышек на клетку. Это свидетельствует о более высокой цитогенетической нестабильности генома семенного потомства в год засухи 2012 г. (по сравнению с 2010 г.), усилении метаболических процессов клетки. Выявлено восемь цитогенетических показателей, которые являются наиболее чувствительными и информативными для оценки степени негативного влияния засухи на стабильность генома семенного потомства сосны обыкновенной: митотическая активность, уровень ПМ; доля метафаз и ана-телофаз с нарушениями; доля клеток с хромосомными aberrациями, мостами, микроядрами и среднее количество ядрышек на клетку.

#### М8-06. ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ СЕМЕННОГО ПОТОМСТВА СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ НИКЕЛЯ И КАДМИЯ

**Белусов М.В.**

ФГБОУ ВПО Воронежский государственный университет  
(Воронеж), Россия  
e-mail: belousov\_m@bio.vsu.ru

Целью работы явилось изучение влияния тяжелых металлов (ТМ), на примере никеля и кадмия, на цитогенетические показатели сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) из Усманского бора (территория Воронежского государственного биосферного заповедника). В опытных пробах проращивание проводилось на растворах нитрата кадмия (II)  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  и гексагидрат нитрата никеля (II)  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  разной концентрации (от 0,5 до 50 мкМ). Контроль проращивали на дистиллированной воде.  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  и особенно  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  в малых концентрациях (5 мкМ в сравнении с 0,5 мкМ) оказывает незначительное стимулирующее действие, но с увеличением концентраций ТМ в опытных растворах митотический индекс (МИ) убывает (от  $7,49 \pm 0,4\%$  до  $5,71 \pm 0,1\%$  для  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ ; от  $7,7 \pm 0,8\%$  до  $5,59 \pm 0,6\%$  для  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ). Различия с контролем достоверны, кроме выборок с концентрацией 5 мкМ  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (здесь увеличение МИ). И в контрольном и в опытных вариантах преобладает профазы. В опытах доля мета-анафаз и анафаз возрастает

(в 1,5-2 раза при сравнении крайних концентраций). Причиной этого может быть блокировка полимеризации тубулина микротрубочек веретена деления под влиянием ионов ТМ. Вместе с тем, снижение МИ может обеспечить дополнительное время для репарации поврежденных хромосомного материала. Ранее было показано влияние ионов ТМ на увеличение длительности клеточного цикла за счет значительного удлинения продолжительности  $G_2$  фазы, на которой происходит синтез тубулина. Также в опытных образцах цитоплазма имела зернистую структуру, что может быть вызвано связыванием ионов ТМ с белками цитоплазмы и их частичной денатурацией. Патологии митоза (ПМ) представлены отставаниями хромосом в анафазе и метакинезе, мостами в анафазе, фрагментациями и сложными нарушениями. В контрольном варианте частота встречаемости нарушений составила  $2,2 \pm 0,4\%$ . Значение ПМ достоверно возрастает с увеличением концентраций опытных металлов. Для  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  рост составил от  $4,48 \pm 0,01\%$  (0,5 мкМ) до  $6,09 \pm 0,5\%$  (50 мкМ). Для  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  – от  $6,02 \pm 0,6\%$  до  $9,1 \pm 0,9\%$ . В контрольном варианте частота клеток с микроядрами составила  $0,12 \pm 0,01\%$ . В опытных – доля микроядер также возрастает с увеличением концентрации ТМ: для  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$  от  $0,16 \pm 0,02\%$  до  $0,39 \pm 0,04\%$ ; для  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  от  $0,11 \pm 0,03\%$  до  $0,31 \pm 0,05\%$ . Различия с контролем достоверны, кроме выборок с концентрацией 0,5 мкМ для обоих ТМ. Данное увеличение доли микроядер свидетельствует о наличии значительного числа нерепарированных повреждений хромосомного материала и ведет к цитогенетической нестабильности клеточных популяций.

#### М8-07. ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ДЕЙСТВИЯ РАДИАЦИИ НА РАСТЕНИЯ ИЗ ЗОНЫ ВОСТОЧНО-УРАЛЬСКОГО РАДИОАКТИВНОГО СЛЕДА

**Антонова Е.В.\*, Позолотина В.Н., Каримуллина Э.М.**  
ФГБУН Институт экологии растений и животных УрО РАН  
(Екатеринбург), Россия

\*e-mail: selenai@ipae.uran.ru

Проведено обобщение многолетних наблюдений в популяциях растений из зоны Восточно-Уральского радиоактивного следа (ВУРСа). Радионуклидное загрязнение сформировалось в 1957 г. в результате аварии на ПО «Маяк» (Челябинская область), вторичное загрязнение площадок произошло спустя 10 лет в результате сдува радиоактивного ила и песка с обмелевшего оз. Карачай. Данная территория представляет собой уникальный природный полигон, на котором антропогенная нагрузка снижена, а растительные сообщества более 55 лет подвергаются радиационному воздействию в малых дозах. Представленные данные демонстрируют разнообразие радиоиндуцированных морфозов у 20 видов растений: изменения формы и цветы органов, образование некрозов, глубокие поражения всех органов и т.д. Установлено, что в разные годы спектр морфозов в выборках менялся. На примере звездчатки злаковой выявлены значимые различия между фоновыми и импактными ценопопуляциями по частоте встречаемости проростков с некрозами корней в 2005 г. ( $\chi^2=6.3$ ,  $df=2$ ,  $p=0.042$ ) и 2007 г. ( $\chi^2=8.0$ ,  $df=4$ ,  $p=0.046$ ). В 2009 г. в выборках из зоны ВУРСа доля проростков со скрученным гипокотилем была в 1.5–2 раза выше, чем в контрольных выборках ( $U$ -тест,  $n=4$ ,  $p=0.002$ ). В ценопопуляциях дремы из зоны ВУРСа доля проростков с некрозами корней и нарушениями формы семядолей ( $\chi^2=30.0-32.8$ ,  $df=3$ ,  $p<0.01$ , 2005 г.) и с нарушением гелиотропизма ( $U$ -тест,  $n_1=16$ ,  $n_2=8$ ;  $p=0.048$ , 2007 г.) значительно превышала фоновый уровень. Доля проростков с некрозами корней в фоновой ценопопуляции составила в среднем 7%, а в хронически облучаемых выборках – 56% ( $n_1=9$ ,  $n_2=27$ ;  $p=0.024$ , 2008 г.). Дополнительное облучение выявило скрытые повреждения: число проростков с хлоро-



фильными аномалиями семядолей в буферной ценопопуляции ( $n=10$ ;  $p=0.002$ ) и с некрозами корней в импактных выборках увеличилось в 1.5–3 раза ( $n=10$ ;  $p=0.007–0.023$ ) относительно собственного необлученного контроля. В 2010 г. в зоне ВУРСа обнаружены растения с обоеполыми цветками (гермафродиты), в то время как в норме у этого двудомного вида четко выражен половой диморфизм. У проростков из зоны ВУРСа чаще встре-

чались нарушения формы семядолей и гипокотыля ( $n_1=8$ ,  $n_2=4$ ;  $p=0.007–0.009$ ). Наблюдаемые морфологические аномалии являются отдаленными последствиями хронического облучения родительских растений.

Работа выполнена при финансовой поддержке системы ведущих научных школ (НШ-5325.2012.4).

# ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБРАЗОВАНИЕ

## **СИСТЕМА ГЕНЕТИЧЕСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ: ОПЫТ САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОГО УНИВЕРСИТЕТА**

***Бузовкина И.С.\****, ***Инге-Вечтомов С.Г.***

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

\*e-mail: buzovkina@mail.ru

Генетическое образование не только обеспечивает подготовку специалистов – генетиков, но и служит важнейшей составляющей всего преподавания биологии. При этом следует учитывать две очевидные научно-образовательные тенденции: (1) углубление в молекулярные механизмы генетических процессов и (2) расширение представлений о генетических основах экологических отношений. Единство этих направлений закладывает общефакультетский курс «Общая генетика» (второй год обучения), развивают спецкурсы и практикумы бакалавриата и магистратуры. Первая тенденция представлена спецкурсами «вокруг» Центральной догмы молекулярной биологии. Вторую - отражают курсы популяционного и эколого-генетического цикла. Объединению двух тенденций служит цикл, отражающий генетические и молекулярные основы эволюции. Такой подход положен в основу системы генетического образования на биологическом факультете, а также преподавания генетики на других факультетах СПбГУ. Студенты, специализирующиеся по генетике, выполняют экспериментальные работы преимущественно на базе лабораторий: кафедры генетики и биотехнологии СПбГУ, Института сельхозмикробиологии, Института акушерства и гинекологии им. Д.О.Отта, СПб Филиала Института общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН, составляющих единый Научно образовательный центр. Вторым аспектом особенностей генетического образования, является то, что генетика, как точная наука, стимулирует развитие логического мышления, умение четко формулировать цели и задачи исследования, учит выдвигать и проверять рабочие гипотезы. Отсутствие этих навыков является серьезной проблемой нынешнего поколения студентов. Поэтому актуальна разработка соответствующих методических подходов и привлечение специалистов-генетиков для ведения не только генетических, но и общебиологических курсов для студентов других факультетов.

## **РОСТКИ НОВОГО: ОТ ФАКУЛЬТЕТСКОЙ ДИСЦИПЛИНЫ К КАФЕДРЕ ГЕНЕТИКИ И БИОТЕХНОЛОГИИ**

***Кавай-оол У.Н.\****, ***Донгак Р.Ш.***, ***Назын Ч.Д.***,

***Дубровский Н.Г.***, ***Ондар С.О.***

*Тувинский государственный университет (Кызыл), Россия*

\*e-mail: dr.urana1963@mail.ru

С момента создания первой кафедры биологии тогда еще в Кызылском педагогическом институте в 1965 году, начинает функционировать тувинская биологическая школа. Позднее с приходом специалистов в 1997 году в Тувинском государственном университете открывается учебно-научная лаборатория генетики. В 2002 – 2011 годах получил развитие широкомасштабный проект «Биоразнообразие и сохранение генофонда флоры, фауны и народонаселения Центрально-Азиатского региона», поддержанный Правительством РТ и грантом РФФИ. В 2011 году вуз имеет Ботанический сад, как учебно-производственную базу полевых практик и спецкурсов. Сегодня генетическое образование является одним из магистральных и университет совместно с ведущими вузами и институтами России активно внедряет программу подготовки кадров нового поколения биологов для Тувы 2013 – 2018 годы. Достигнуты соглашения с Санкт-Петербургским, Новосибирским и Башкирским университетами, а также научно-исследовательскими институтами РАН и СО РАН и РАН. В разные годы Тувинский университет посетили ученые И.А. Захаров-Гезехус, М.М. Асланян, А.Н. Савостьянов и В.В. Чуб. Неоценимый вклад вносят профессора и/или доктора наук Т.А. Ежова, С.А. Боринская, Э.К. Хуснутдинова, Н.А. Колчанов, П.М. Бородин, О.Л. Посух и др. Среди преподавателей Тувинского ГУ работают также сотрудники Тувинского Института комплексного освоения природных ресурсов СО РАН и Перинатального центра МЗ РТ. В нынешнем году произошло укрупнение научно-образовательного центра коллективного пользования дорогостоящим оборудованием ТувГУ. В него вошли генетики. В текущем году профессорско-преподавательский состав университета осуществил программу повышения квалификации для научно-педагогических кадров России «Биотехнология растений Тувы» по приоритетному направлению «Биоинформационные и биотехнологии» в объеме 72 часов (Приказ Минобрнауки России № 47 от 25 января 2013 года, г. Москва). К 2015 году запланированы создание базы, а затем реализация специальности «Биоинженерия и биоинформатика» (шифр 020501.65). Кафедра общей биологии решением заседания от 13 декабря 2013 года рассмотрела вопрос об открытии кафедры генетики и биотехнологии в Тувинском государственном университете. В настоящее время специалисты с участием генетиков работают над штатным расписанием новоиспеченной кафедры.

# Авторский указатель

- Абдуллаев Р.А. 13, 183  
Абилев С.К. 29, 196, 199  
Абрамов Ю.А. 43  
Абрамычева Н.Ю. 112, 124  
Абылкасымова Г.М. 198  
Авруцкая В.В. 104  
Автайкина Е.А. 92  
Агджоян А.Т. 86  
Аджиева В.Ф. 130  
Адоньева Н.В. 120  
Азарахш М. 78  
Азарин К.В. 163  
Азаров А.С. 34  
Азнабаев М.Т. 100  
Айшаева З.М. 160  
Акбердин И.Р. 52  
Аклеев А.В. 198  
Аксенова Е.А. 92  
Аксенова О.Н. 92  
Аксенович Т.И. 84  
Аксютина Н.Б. 161  
Акулов А.Е. 88, 119  
Алагорцев В.Е. 15  
Александрова А.А. 40  
Александрова М.В. 189  
Александров Е.А. 199  
Александров И.Д. 189  
Александров О.С. 130  
Алексеев А.Н. 88  
Алексеева С.С. 41  
Алексеев Л.Л. 35  
Алешина Е.С. 59  
Алиева А.Х. 111, 118  
Алоева А.Б. 160  
Алпатыева Н.В. 13, 14, 132, 162  
Алтынова Н.К. 198  
Альберт Е.В. 55, 76  
Амиргалиева А.С. 107, 198  
Амосова А.В. 168  
Ананьина Т.В. 36  
Андреева Е.А. 167  
Андреева Л.Е. 75  
Андреев О.В. 120, 124  
Андрейчук Д.Ю. 57  
Андрейчук Ю.В. 30, 46  
Андрианов Б.В. 7, 15, 189  
Андропова Н.В. 101  
Андронов Е.Е. 66, 188, 202  
Анисимова И.Н. 162  
Анисимова Н.В. 63  
Анохина Е.Н. 97, 100  
Анохин К.В. 117  
Антонец К.С. 61, 62, 65  
Антонова Е.В. 204  
Антонова О.О. 167  
Антонова О.Ю. 132  
Антосюк О.Н. 200  
Арбузова В.С. 147, 152  
Аржанова О.Н. 116  
Артемов Г.Н. 23  
Арутюнян Р.М. 106  
Архипов И.А. 17  
Арцыбашева И.В. 35  
Асланян М.М. 80  
Асташева Н.А. 144  
Астраханцев А.Ф. 96  
Атопкин Д.М. 22  
Атраментова Л.А. 86  
Афанасенко О.С. 128  
Афанасьев К.И. 12, 23  
Афонин А.Н. 191  
Афонников Д.А. 185  
Афончикова Е.В. 93  
Ахметкиреева Т.Т. 37  
Ахтемова Г.А. 193  
Ацаева М.М. 98  
Ацапкина А.А. 37  
Ашибоков У.М. 190  
Ашканова Т.М. 100  
Бабак О.Г. 130  
Баблюк Е.В. 118  
Бабушкина Н.П. 109  
Бабыкин М.М. 54  
Бабынин Э.В. 21  
Бадаева Е.Д. 148, 149  
Бады-Хоо М.С. 87  
Баженова О.В. 106  
Базовкина Д.В. 45, 117, 119  
Базыкин Г.А. 5  
Баканова М.А. 95  
Балакирев А.Е. 9, 23  
Балановская Е.В. 25, 79, 86  
Балановский О.П. 25, 79, 86  
Балахонцева Л.Н. 156  
Банникова С.В. 141  
Баннова А.В. 118  
Баранкова И.В. 180  
Баранник А.П. 97  
Баранова Е.Е. 101, 115  
Баранов В.С. 82, 84, 100, 116, 188  
Барашков Н.А. 87, 88  
Барбараш Л.С. 112, 113  
Барбараш О.Л. 112, 113  
Барсуков М.И. 15  
Баскевич М.И. 190  
Баташева Б.А. 183  
Баттулин Н.Р. 32, 89  
Бахланова И.В. 32  
Бахтадзе Г.Б. 40  
Башмаков В.Ю. 39  
Бегманова М.О. 107  
Бекманов Б.О. 198, 201  
Бекузарова С.А. 199  
Белан И.А. 129, 148  
Белая Е.В. 139  
Белецкий А.В. 53, 65  
Белимов А.А. 202  
Белова К.А. 23  
Белова Л.И. 129  
Белов В.И. 150  
Белоконь М.М. 17  
Белоконь Ю.М. 17  
Белокрылова Д.О. 73  
Белокуров С.Г. 175  
Белоусов М.В. 204  
Белоцерковская Е.В. 123  
Белько Н.Б. 134  
Белявская А.Я. 64  
Беляков В.К. 35  
Беньковская Г.В. 37  
Березенко Е.С. 73  
Бёрнер А. 146  
Бернер Т. 70  
Берсимбай Р.И. 198  
Беседина Н.Г. 121



- Беспалова Л.А. 128, 148  
 Бигалиев А.Б. 201  
 Битенова М.М. 197  
 Битгуева М.М. 95  
 Бобохужаев Ш.У. 171  
 Бобошина И.В. 136  
 Бобьрев А.Е. 12  
 Богданов Ю.Ф. 41  
 Богомаз Д.И. 60, 191  
 Богомазова А.Н. 69  
 Богунов Ю. 25  
 Бойкая Е.А. 180  
 Бойко А.Н. 49  
 Бойко Н.В. 29, 38  
 Бойко Н.И. 182  
 Болгов А.Е. 140  
 Болдырев С.В. 179  
 Большакова О.И. 108  
 Бондаревич Е.Б. 151  
 Бондарев С.А. 30, 56  
 Бондаренко Е.А. 102  
 Бондарь А.А. 87  
 Боринская С.А. 26, 91  
 Борис К.В. 62  
 Борисов А.Ю. 64, 72, 186, 191, 193, 202  
 Борисова Е.В. 123  
 Борисов Ю.М. 192  
 Боровик А.Н. 143  
 Боровкова Н.К. 123  
 Боронникова С.В. 136  
 Борхсениус А.С. 57, 59, 61  
 Брагин А.Г. 87  
 Брагина Е.Ю. 109  
 Брагина Ю.В. 44, 121  
 Брач Н.Б. 166  
 Брыков В.А. 24  
 Брянская А.В. 141  
 Буга С.В. 13  
 Будашкина Е.Б. 147  
 Бузовкина И.С. 206  
 Буйкин С.В. 109  
 Букин Ю. 4  
 Булгакова И.В. 110  
 Булдакова М.С. 156  
 Булойчик А.А. 147  
 Булыгина В.В. 118, 120  
 Бурдина Е.В. 120  
 Бурлаковский М.С. 183, 184  
 Буров А.А. 101  
 Буслов К.Г. 87  
 Бутовская М.Л. 24, 119  
 Буханов С.В. 7  
 Бушуева О.Ю. 110  
 Бывальцев А.М. 23  
 Быков В.А. 168  
 Быков Р.А. 5, 189  
 Бычкова Э.О. 33  
 Бяхова М.М. 93, 96  
 Бяхов М.Ю. 96  
 Вайдо А.И. 122  
 Вайсфельд Л.И. 199  
 Ваккерров-Коузова Н.Д. 74  
 Вакула С.И. 161  
 Валова Я.В. 104  
 Варнавская Н.В. 11  
 Василенко И.А. 35  
 Васильева А. 178  
 Васильева Е. А. 34, 114  
 Васильева Е.Д. 6, 12  
 Васильева Е.Н. 140  
 Васильева И.М. 107  
 Васильев В.А. 17, 24, 119  
 Васильев В.П. 6, 12  
 Васильев С.А. 115  
 Вассерлауф И.Э. 36, 41  
 Васькова Е.А. 68  
 Вафина Г.Х. 77  
 Вахрушин Е.В. 129  
 Вашукова Е.С. 116  
 Ведмедева Е.В. 162  
 Велегжанинов И.О. 47  
 Вепринцев В.Н. 172  
 Вербенко В.Н. 32  
 Вергун А.А. 21  
 Веремейчик В.М. 91  
 Вертий Н.С. 154  
 Веселкина Е.Р. 15  
 Виллемс Р. 79, 86  
 Винарская Н.П. 23  
 Виноградова А.Г. 72  
 Виноградова А.П. 76  
 Владимирова А.В. 138  
 Владимиров И.А. 176  
 Воеводин С.М. 101  
 Воейкова Т.А. 176  
 Войлоков А.В. 34, 152, 153  
 Волкова А.П. 114  
 Волкова Н.Е. 124  
 Волков И.А. 50  
 Волобаев В.П. 201  
 Волченко Г.А. 144  
 Волченко С.Г. 144  
 Воробьева Е.В. 108  
 Воробьева Л.И. 124  
 Воробьева О.А. 96  
 Воробьев Н.В. 157  
 Воронина В.С. 171  
 Воронина Е.Н. 95  
 Воронкова В.Н. 138  
 Воронова Н.В. 13  
 Воронцов И.Е. 48  
 Высоцкая О.Н. 182  
 Высочина Н.П. 23  
 Вяткина С.В. 83  
 Габбасова Л.В. 103, 104  
 Габидулина Т.В. 113  
 Габуня З.Р. 96  
 Гавриленко Т.А. 132, 167  
 Гаврилова В.А. 162, 164  
 Гаврилова О.А. 161, 163  
 Гагинская Е.Р. 139  
 Гайдученко Е.С. 192  
 Гайзуллин И. Б. 108  
 Галиновский Д.В. 63  
 Галкин А.П. 52, 56, 61, 62  
 Галкина С.А. 139  
 Ганчева М.С. 72, 76  
 Гараева А.Ф. 109  
 Гарник Е.Ю. 70  
 Гарушянц С.К. 64  
 Гвоздев В.А. 43  
 Гельфанд М.С. 64  
 Гелюта И.В. 73  
 Гембицкая Т. 84  
 Генаев М.А. 185  
 Геращенко Т.С. 111  
 Гизатуллина А.А. 104  
 Гилязова И.Р. 93  
 Гималова Г.Ф. 112  
 Гимбут В.С. 104  
 Гинанова В.Р. 33  
 Гинтер Е.К. 115  
 Гирнык А.Е. 21  
 Гладышева Е.Г. 111  
 Глазков А.В. 193  
 Глазков М.В. 32, 43  
 Глазырина В.А. 157  
 Глотов А.С. 116  
 Глотов О.С. 188  
 Гнетецкая В.А. 82  
 Гнутиков А.А. 19  
 Говорун В.М. 114  
 Годакова С.А. 9  
 Головенчик В.И. 13  
 Голоенко И.М. 25, 92  
 Голубева Е.С. 141  
 Голубенко М.В. 109  
 Голубица А.Н. 70, 73, 89  
 Голубкова Е.В. 33, 37  
 Гончарова Р.И. 39  
 Гончарова Э.А. 145  
 Гончаров Н.П. 131  
 Горбачева Н.Г. 181  
 Горбаченко Ф.И. 164  
 Горбунова В.Ю. 108  
 Гордеева Е.И. 51, 149  
 Гордеев М.И. 7  
 Гордей И.А. 134, 154  
 Гордей И.С. 134  
 Горелова Т.В. 15  
 Горелов П.В. 126  
 Горохов В.В. 17  
 Горская Н.Е. 104  
 Горянин И.И. 45, 178  
 Горячева И.И. 35, 189  
 Горячковская Т.Н. 51, 141

- Готовцев Н.Н. 88  
 Грабовец А.И. 135  
 Градсков С.М. 153  
 Григорьева А.В. 158  
 Григорьева О.О. 9, 23  
 Григорьев Д.С. 124  
 Григорьев М.П. 190  
 Григорьев Я.М. 153  
 Гринкевич Л.Н. 122  
 Гринчук Т.М. 35, 98  
 Гришаева Т.М. 41  
 Гришин В.М. 158  
 Громова Т.Н. 193  
 Грудинина Н.А. 199  
 Грунтенко Н.Е. 120, 124  
 Губицкая Е.Г. 197  
 Гуенкова Е.А. 128  
 Гузенко Е.В. 165  
 Гулевич Е.П. 32  
 Гуляев А.С. 17  
 Гуменная Э.Р. 112  
 Гумеров В.М. 53  
 Гурина О.Ю. 160  
 Гусева О.В. 184  
 Гуткевич Е.В. 81  
 Давиденко К.А. 200  
 Давоян Р.О. 148, 151  
 Давоян Э.Р. 148  
 Давыденко О.Г. 25  
 Даев Е.В. 187  
 Даниленко В.Н. 140  
 Даниленкова Л.В. 44, 121  
 Даниленко Н.Г. 25  
 Данилов А.А. 33, 90  
 Данилова Л.В. 49  
 Данилова М.И. 139  
 Данилов Ю.Н. 23  
 Даурова Л.В. 95  
 Дебабов В.Г. 127, 176  
 Девяткина Э.П. 129  
 Демиденко Н.В. 51, 55  
 Демидова Е.А. 141  
 Демидова Е.В. 51  
 Демидов Е.А. 51, 141  
 Демиркан А. 84  
 Демихова Д.С. 179  
 Демченко К.Н. 71, 190  
 Демченко Н.П. 71  
 Демьяненко С. В. 120, 179  
 Денби-Уилкс С. 5  
 Денисов Е.В. 111  
 Джамбетова П.М. 195, 199  
 Джансугурова Л.Б. 107, 198  
 Джемилева Л.У. 88  
 Джигадло Е.Н. 174  
 Дзюба В.А. 157  
 Дибирова Х.Д. 25, 86  
 Дивашук М.Г. 130  
 Диетриш А. 70  
 Добровольская Е.В. 44  
 Добровольская О.Б. 71, 149, 185  
 Добрынин П.В. 48  
 Довгерд А.П. 45  
 Додуева И.Е. 72, 76  
 До К. 199  
 Долгая Ю.Н. 37  
 Долгих Ю.И. 182  
 Долматович Т.В. 34, 147  
 Дольник А.С. 188  
 Домнина А.П. 98  
 Донгак Р.Ш. 206  
 Донец Н.В. 144  
 Донская М.В. 158  
 Доронин С.А. 42  
 Дорошков А.В. 185  
 Драгович А.Ю. 149  
 Дроздова П.Б. 56, 61  
 Дронина М.И. 196  
 Дронова Д.А. 24, 119  
 Дружинин В.Г. 200, 201  
 Дружкова А.С. 139  
 Дубовец Н.И. 151  
 Дуброва Ю.Е. 29  
 Дубровин Г.М. 101  
 Дубровский Н.Г. 206  
 Дубынин В.А. 11  
 Дудин Г.П. 156  
 Дукельская А.В. 187  
 Дыгало Н.Н. 117, 118, 120  
 Дьяченко Е.А. 132  
 Дюжикова Н.А. 122  
 Евсюков А.Н. 175  
 Ежова Т.А. 55, 74, 76  
 Елисеева Ю.И. 195  
 Емельянова Л.К. 176  
 Емельянов В.В. 183, 184  
 Енукашвили Н.И. 84  
 Епископосян Л.М. 25  
 Ермакова А.Е. 53  
 Ермак Т.В. 52  
 Ермоленко Н.А. 95  
 Ершов Н.И. 64, 72, 113  
 Ефимова К.В. 24  
 Ефимов В.М. 58  
 Ефремова Т.Т. 147, 152  
 Жабагин М. 25  
 Жарикова Н.В. 60  
 Жарков Д.О. 45  
 Железнякова Г.Ю. 100  
 Железнякова Е.В. 165  
 Железова А.И. 70, 73, 89  
 Женавчук О.Ф. 177  
 Жернаков А.И. 64, 72, 193, 202  
 Жерновков В.Е. 48  
 Животовский Л.А. 23, 192  
 Жидехина Т.В. 173  
 Жирнов И.В. 169  
 Жиров С.В. 16  
 Жук А.С. 30, 46  
 Жукос В.А. 64, 72, 191, 202  
 Жунусбекова Б.Б. 198  
 Журавлев А.В. 121  
 Журавлева Г.А. 4, 30, 56  
 Журавлева И.В. 115  
 Журавлев Ю.Н. 22  
 Журенко Е.Ю. 60  
 Журков В.С. 96  
 Жученко А.А. 183  
 Забара Ю.М. 161  
 Завгородний С.В. 150  
 Завильгельский Г.Б. 45, 141, 178  
 Завьялова М.В. 111  
 Загидуллин А.А. 93  
 Загидуллин Ш.З. 112  
 Задорский С.П. 57, 61  
 Зайнулина М.С. 116  
 Зайнуллин В.Г. 40  
 Зайцева М.А. 87  
 Зайцева О.Г. 83  
 Закиян С.М. 68  
 Запорожченко В.В. 79  
 Зарецкая М.В. 20  
 Зарецкая Н.В. 101  
 Засухина Г.Д. 107  
 Захаров-Гезехус И.А. 14, 25  
 Захарова М.Н. 112  
 Захаров В.Г. 142  
 Захаров Г.А. 121  
 Захаров И.К. 5  
 Зачепило Т.Г. 122  
 Звягина А.С. 194  
 Зеленин А.В. 168  
 Зеленский Г.Л. 134  
 Земелько В.И. 98  
 Земская Н.В. 33  
 Зинченко В.В. 54  
 Злотина М.М. 131  
 Зобнина А.Е. 178  
 Золотов О.Г. 10  
 Зоркольева И.В. 84  
 Зотиков В.И. 133, 193  
 Зубанова Ю.С. 148  
 Зубова Ю.Г. 83  
 Зубо Я.О. 70  
 Зыкин П.А. 167  
 Зыцарь М.В. 87  
 Иванисенко В.А. 109, 116  
 Иваницкий К.И. 170  
 Иванова-Смоленская И.А. 124  
 Иванова К.А. 77  
 Иванова Л.Н. 68  
 Иванова Л.П. 150  
 Иванова Л.Ю. 115  
 Иванова П.Н. 37  
 Иванова Т.И. 96  
 Иванова Э.А. 77  
 Иванов В.П. 101, 110

- Иванов М.А. 82  
 Иванов Р.С. 77  
 Иващенко Т.Э. 84, 104, 188  
 Игнатова И.В. 171  
 Игнатьева Е.В. 58  
 Игнатьева М.А. 31  
 Иголкина А.А. 66  
 Ижевская В.Л. 81, 115  
 Илинский Ю.Ю. 5, 23, 189  
 Иллариошкин С.Н. 50, 111, 112, 114, 124  
 Ильина Е.Л. 71  
 Ильина К.Г. 196  
 Ильина Ю.А. 31  
 Ильинских Е.Н. 103  
 Иментай А.К. 201  
 Инге-Вечтомов С.Г. 28, 30, 46, 57, 59, 61, 206  
 Ирошников А.И. 137  
 Истомина Е.А. 50  
 Итальянская Ю.В. 180  
 Кабаненко Ю.Н. 185  
 Кавай-оол У.Н. 206  
 Кадников В.В. 53, 65  
 Казанцев Ф.В. 52  
 Казыдуб Н.Г. 160  
 Каласев В.Н. 171  
 Калашник Н.А. 194  
 Калегина А.В. 17  
 Каледин В.И. 38  
 Калинин А.А. 17  
 Калинина Т.С. 118, 120  
 Калмыш А.П. 153  
 Калугина А.С. 83  
 Камалова И.И. 172  
 Камалов Р.М. 172  
 Камене́цкая Ю.К. 83  
 Камене́цкий Б.А. 83  
 Камышева Е.А. 44, 121  
 Камышев Н.Г. 44, 121  
 Кауникова Е.А. 197  
 Карабанов А.В. 111  
 Каракоз И.И. 131  
 Карбышева Е.А. 177  
 Каримуллина Э.М. 204  
 Карлов Г.И. 130  
 Карпенко О.Ю. 74  
 Карпеченко Н.А. 172  
 Карпова Е.К. 120, 124  
 Карпова С.С. 171  
 Карселадзе А.И. 93  
 Картавцев Ю.Ф. 8  
 Картамышева Е.В. 161, 164  
 Карунас А.С. 112  
 Катохин А.В. 58  
 Качкин Д.В. 62  
 Кашеварова А.А. 70, 85  
 Каштанов С.Н. 138  
 Кедрова Л.И. 153  
 Керефова М.К. 95  
 Кизилова Е.А. 70, 73, 89  
 Кильчевский А.В. 53, 63, 130, 166  
 Ким А.А. 26  
 Ким А.И. 6, 16  
 Кимеклис А.К. 202  
 Киреева А.И. 139  
 Кирпий А.А. 38  
 Кирюхин Е.А. 101  
 Киселев А.В. 100  
 Киселев С.Л. 68, 69, 114  
 Кислик Г.А. 90  
 Китаева А.Б. 190  
 Китаев К.А. 37  
 Кит О.И. 29  
 Кларов Л.А. 88  
 Клепикова А.В. 51, 55, 72  
 Кливер С.Ф. 33  
 Клименко А.И. 49  
 Клименко Е.С. 70  
 Климентова Е.А. 93  
 Климов Е.А. 93  
 Клоков Д.Ю. 47  
 Клошников С.А. 124  
 Кобегенова С.С. 201  
 Ковалева М.И. 196  
 Ковалева О.Н. 131  
 Коваленкова М. 4  
 Коваленко К.А. 98  
 Коваленко Т.В. 159  
 Коваленко Т.Ф. 96  
 Ковтуненко В.Я. 153  
 Кожаметова А.Н. 201  
 Козикова Л.В. 75  
 Козлов А.А. 154  
 Козловская З.А. 18  
 Кокаева З.Г. 93  
 Кокшарова О.А. 195  
 Кокшарова Т.А. 146  
 Колоколова Н.С. 163  
 Коломиец О.Л. 98  
 Коломин Т.А. 114, 122  
 Колтовая Н.А. 90  
 Колумбаева С.Ж. 196  
 Кольчугина Г.Ф. 197  
 Комахина В.В. 183  
 Комахин Р.А. 183  
 Комиссаров А.С. 48  
 Кондратенко А.С. 25, 92  
 Кондратьева Н.С. 93  
 Кондрашкина А.М. 61  
 Конев А.Ю. 31, 42  
 Конева Л.А. 109  
 Коновалова Г.С. 183  
 Константинов Ю.М. 70  
 Копусь М.М. 141  
 Копытгов А.В. 92  
 Корнеева С.А. 181  
 Корнилов Н.В. 83  
 Коробов В.В. 60  
 Коровкина А.В. 55  
 Королев В.Г. 31  
 Коростылева Т.В. 50  
 Корчагин В.И. 9  
 Косицына А.И. 10, 11  
 Космынин А.А. 96  
 Кострюкова Е.С. 114  
 Костылев П.И. 157  
 Котлованов Л.В. 31  
 Котова В.Ю. 141  
 Коханенко А.А. 42  
 Коцинян А.Р. 19, 139  
 Коченова О.В. 30  
 Кочеткова Т.О. 93  
 Кочетов А.В. 169  
 Кочиева Е.З. 132  
 Кошкин В.А. 128  
 Кравцова Л. 4  
 Кравцова Л.А. 129  
 Кравченко В.В. 37  
 Красников А.А. 71  
 Крестьянова И.Н. 176  
 Кривенцова Н.В. 104  
 Кригер С.Ю. 104  
 Крикунова Л.И. 96  
 Криницына А.А. 183  
 Кришук И.А. 192  
 Крутовский К.В. 126  
 Крылова Е.А. 132, 167  
 Крюкова А.Я. 103, 104  
 Кудрявцев А.М. 17, 133  
 Кудрявцева А.В. 33  
 Кудряшова В.И. 92  
 Кужир Т.Д. 94  
 Кузмицкая П.В. 18  
 Кузнецов А.Б. 35  
 Кузнецова В.Г. 7  
 Кузнецова Е.Б. 162  
 Кузнецова Л.В. 32  
 Кузнецова Н.Л. 144  
 Кузнецова Т.В. 84  
 Кузнецова Т.Л. 14  
 Кузьмина Г.Н. 161  
 Кузьмина С.П. 160  
 Кузьмин И.В. 16  
 Кулаева О.А. 194  
 Кулакова О.Г. 49  
 Кулаковский И.В. 48  
 Кулешова А.Е. 118  
 Куликов А.В. 88, 119  
 Куликов А.М. 24, 119  
 Куликова Е.А. 88, 119  
 Куликов В.А. 45  
 Кулинченко М.В. 70  
 Кураков А.В. 60  
 Курамшина О.А. 103, 104  
 Курбатова О.Л. 91  
 Куренков А.А. 202



- Курцер М.А. 82  
 Курченко В.П. 13  
 Кустова А.С. 10  
 Кутакова Ю.Ю. 82  
 Кутлыева Л.Р. 93  
 Кутузова С.Н. 166  
 Кушнеревич Е.И. 25, 86  
 Кхуат Тхи Май Л. 130  
 Лавренов А.Р. 16  
 Лаврик О.И. 28  
 Лавров С.А. 42, 43  
 Лавряшина М.Б. 91  
 Лагарькова М.А. 68, 69, 114  
 Лазебная И.В. 175  
 Лазебный О.Е. 24, 119  
 Лайкова Л.И. 71, 148  
 Ланшаков Д.А. 118, 120  
 Лapidус А.Л. 48  
 Лапшина А.Е. 192  
 Ларькина Н.И. 170  
 Лахин А.В. 75  
 Лашин С.А. 49, 58  
 Лебедев А.Ю. 101  
 Лебедева Е.Б. 12  
 Лебедева О.Н. 18  
 Лебедев В.А. 136  
 Лебедев И.Н. 70, 83, 85, 111, 113, 115  
 Левашева С.В. 112  
 Левина Т.А. 183  
 Левицкий В.Г. 66  
 Лемеш В.А. 165  
 Леонова И.Н. 147, 149  
 Лимборская С.А. 102, 114  
 Липаева П.В. 56, 61  
 Лир Т. 106  
 Лисина Т.В. 136  
 Литвинова Е.М. 190  
 Литвяков Н.В. 111  
 Литючий А.В. 163  
 Лиф И.А. 58  
 Лихенко И.Е. 131  
 Лихошвай В.А. 52  
 Ловинская А.В. 196  
 Логачева М.Д. 51, 55, 64, 72, 163  
 Логинова Д.Б. 184  
 Ломоносов А.М. 38  
 Лопатина Н.Г. 122  
 Лопаткин А.А. 17  
 Лоскутов И.Г. 131  
 Лошакова К.А. 193  
 Лукина Н.А. 74  
 Лутова Л.А. 60, 72, 76, 78, 167, 176, 183, 184, 191  
 Лучкина Т.Н. 164  
 Лушников С.Г. 121  
 Лысогорская Е.В. 112, 124  
 Лыхолой А.Н. 152  
 Люсикив О.М. 134  
 Лялина Е.В. 19, 179  
 Ляпин В.М. 101  
 Лях В.А. 180, 181  
 Магомедова З.М. 61  
 Мазур А.М. 82  
 Макарова И.В. 75  
 Макарова Н.Н. 175  
 Макасе А.А. 31, 42  
 Макеева В.М. 17  
 Макеева О.А. 109  
 Макеев В.Ю. 48  
 Максимов А.Ю. 29  
 Малахо С.Г. 72  
 Малинина Т.В. 23  
 Малиновский В.И. 169  
 Малуп Т.К. 141  
 Малько Д.Б. 64  
 Мамон Л.А. 33, 37, 44  
 Мамошина П.О. 76  
 Манухов И.В. 45, 141, 178  
 Марвин А.М. 200  
 Марвин Н.А. 200  
 Марданов А.В. 53, 65  
 Марданшин И.С. 168  
 Маретина М.А. 100  
 Маркин Н.В. 163  
 Марков А.В. 112, 113  
 Маркоска К. 33  
 Маркушева Т.В. 60  
 Мартинек П. 71  
 Мартыненко Г.Е. 133  
 Мартынов С.П. 19  
 Марышев И.В. 178  
 Матвеева В.А. 85  
 Матвеева Н.М. 70, 89  
 Матвеева Т.В. 26, 60, 176, 191  
 Матвеевский С.Н. 98  
 Матийцев Н.П. 90  
 Матишов Д.Г. 29, 38  
 Матушкин Ю.Г. 49, 58, 64  
 Махновский П.А. 16  
 Махоткин М.А. 29, 38  
 Машарский А.Э. 139  
 Машкина Е.В. 98  
 Машкина О.С. 203  
 Мвачаро Й. 139  
 Медведева А.В. 37, 121  
 Медведев С.П. 68, 125  
 Мейер А.В. 200  
 Мейер Э. 5  
 Мелькина О.Е. 45  
 Мельников А.А. 115  
 Мензоров А.Г. 70, 89  
 Меньшанов П.Н. 118  
 Мерзлякова Я.В. 193  
 Мещерский И.Г. 9  
 Мещерякова И.А. 51, 141  
 Милюкова Н.А. 183  
 Миндлин С.З. 60  
 Минина В.И. 95  
 Миронова В.В. 66  
 Миронова Л.Н. 56, 61  
 Миронова Т.А. 190  
 Митрофанова О.П. 135, 150  
 Митрофанов В.Г. 15  
 Мить Н.В. 107  
 Михайлин Е.С. 116  
 Михайлова Е.И. 34  
 Михайлова М.Е. 139, 176  
 Михайлов В.Ф. 107  
 Михалёва Е.А. 40, 42  
 Михальская В.Ю. 87  
 Михеева Л.Е. 177  
 Мишин Л.А. 166  
 Мкртчян Л.С. 96  
 Мовсесян С.О. 17  
 Мозговая Е.В. 116  
 Молотова Н.Г. 44  
 Монахова М.А. 35  
 Моргун Б.В. 155  
 Моргунов А.И. I. 131  
 Мороз А.А. 124  
 Морозова Е.В. 144, 146  
 Морозов И.В. 87  
 Москаев А.В. 7  
 Москалев А.А. 33, 44, 47, 90  
 Москвин А.С. 17  
 Мошкин М.П. 80, 88  
 Мудрова А.А. 143, 145  
 Муженя Д.В. 97, 100  
 Мун С.А. 95  
 Мунтян А.Н. 63, 203  
 Мунтян В.С. 63, 188, 203  
 Муравенко О.В. 165, 168  
 Муравская У.О. 10, 11  
 Муратова Ф.Т. 198  
 Мустафина О.Е. 85, 99  
 Муха Д. В. 89  
 Мьльников С.В. 107  
 Мясоедов Н.Ф. 114  
 Надыршина Д.Д. 102  
 Назаренко Л.П. 85  
 Назаренко М.С. 112, 113  
 Назын Ч.Д. 206  
 Насибуллин Т.Р. 99  
 Насыхова Ю.А. 84, 104  
 Натальин П.Б. 30  
 Науменко В.С. 117  
 Наумкина Т.С. 193  
 Наумкин В.В. 193  
 Наумова Е.С. 177  
 Наумов Г.И. 177  
 Наумов Д.Г. 52  
 Некрасова А.А. 74  
 Некрасова И.В. 5  
 Некрасов Е.Д. 69, 114  
 Некрашевич Н.А. 130  
 Немудрый А.А. 68

- Ненашева В.В. 40, 42, 75  
 Нестерук Л.В. 175  
 Нефедова Е.М. 197  
 Нефедова Л.Н. 6, 16  
 Нечаева Ю.С. 136  
 Нигматулина Е.А. 11  
 Нижников А.А. 52, 56, 61, 65  
 Никитенко А.Ю. 22  
 Никитина В.И. 166  
 Никитина Е.А. 37  
 Никитченко Н.В. 94  
 Никифоров А.И. 23  
 Николаева И.Е. 85  
 Николаев В.В. 91  
 Николаевская Т.С. 18  
 Никольский Н.Н. 98  
 Никоноров Ю.М. 37  
 Новикова Л.М. 176  
 Новикова Л.Ю. 132  
 Новоселова Н.Н. 191, 193  
 Новрузлу Г.А. 155  
 Нониашвили Е.М. 199  
 Носков А.Н. 156  
 Носова А.Ю. 154  
 Носова О.Н. 180  
 Нургалиева А.Х. 103, 104  
 Нуржибек К. 198  
 Обандо Т. 54  
 Овчинникова А.Б. 132, 167  
 Овчинникова Л.П. 38  
 Оганесян Г.Г. 106  
 Одинцова Т.И. 50  
 Одишелидзе Н.В. 96  
 Озолина Л.А. 96, 97  
 Окулова Н.М. 190  
 Омельченко А.В. 21  
 Омельченко В.Т. 12  
 Омелянчук Л.В. 90  
 Омелянчук Н.А. 66  
 Ондар С.О. 206  
 Опарина Т.И. 107  
 Орджоникидзе К.Г. 196  
 Орищенко К.Е. 89  
 Орлов А. 84  
 Орлов В.Н. 9, 23  
 Орловская О.А. 151  
 Осадчая Т.С. 129  
 Осипова М.А. 72, 76, 78  
 Осипов Ф.А. 21  
 Павлов А.В. 166  
 Павлов А.Е. 87  
 Павлова Г.В. 68, 122  
 Павлова М.Б. 122  
 Павлова О.А. 26, 191  
 Павлова С.В. 22  
 Павлов В.Н. 93  
 Падкина М.В. 178  
 Пакин В.С. 116  
 Панайотов И. 134  
 Паневина А.В. 39  
 Панич А.Е. 59  
 Панова А.А. 44, 121  
 Панова А.В. 69  
 Пантелеев А.В. 139  
 Панченко В.В. 153  
 Пардаева Е.Ю. 203  
 Паритов А.Ю. 95, 160  
 Пасюкова Е.Г. 15, 89  
 Паткин Е.Л. 123, 199  
 Пагрушев Л.И. 96, 97  
 Пеков Ю.А. 72  
 Пельтек С.Е. 51, 141  
 Пенин А.А. 51, 55, 72  
 Пердисес А. 6  
 Перегудова Д.О. 33  
 Перельмутер В.М. 111  
 Перетолчина Т. 4  
 Перчун А.В. 175  
 Першина Е.В. 188  
 Першина Л.А. 31, 129, 147, 148, 152  
 Петраш Н.В. 149  
 Петрова М.А. 60  
 Петрова Н.А. 16  
 Петуховский С.Л. 131  
 Печковская Т.В. 161  
 Пивкина А.В. 92  
 Пилипенко А.С. 85  
 Пильганчук О. А. 10, 11  
 Пинаев А.Г. 188, 202  
 Пискарев В.В. 182  
 Плугов А.Г. 50  
 Плюсина Е.Н. 33, 44, 47  
 Победоносцева Е.Ю. 91  
 Подвицкий Т.А. 63  
 Подуровская Ю.Л. 101  
 Позолотина В.Н. 204  
 Покровский Д.К. 31  
 Покушалов Е.А. 125  
 Политов Д.В. 17  
 Полищук С.С. 155  
 Полоников А.В. 110  
 Полтева О.В. 202  
 Полуэктова М.В. 96  
 Полюдина Р.И. 158  
 Полякова Т.В. 196  
 Поморцев А.А. 19, 179  
 Пономарева Н.С. 40, 59  
 Попик В.М. 51  
 Попова А.А. 171, 195  
 Попова Н.А. 38  
 Попова Н.К. 117, 119  
 Попова О.М. 71  
 Попов В.Н. 39, 203  
 Попов К.П. 202  
 Пороховинова Е.А. 166  
 Посух О.Л. 87, 88  
 Потапова Т.В. 70  
 Потапов С.Г. 190  
 Потехин А.А. 5  
 Потокина Е.К. 128, 131  
 Потоцкая И.В. 131  
 Почешхова Э.А. 25  
 Празднова Е.В. 179  
 Пристяжнюк И.Е. 70, 89  
 Проворов Н.А. 66, 187, 188, 202  
 Просовская А.О. 44  
 Прохорова И.М. 196  
 Прохоровская В.Д. 23  
 Прохорчук Е.Б. 82, 88  
 Прошаков П.А. 15  
 Пугачёва Г.М. 173  
 Пудовкина Т. 4  
 Пузырев В.П. 109, 112, 113  
 Пухаев А.Е. 202  
 Пчелина С.Н. 50  
 Пшеницына Т.С. 157  
 Пшеничникова Т.А. 144, 146, 185  
 Пшеничнов А.С. 79  
 Пшенникова В.Г. 88  
 Пюккенен В.П. 150  
 Равин Н.В. 65, 180  
 Радченко Е.Е. 13, 14, 183  
 Радченко Э.А. 56, 61  
 Разин С.В. 28  
 Разумова О.В. 130  
 Ракидин А.Л. 53, 180  
 Ракицкая Т.А. 23  
 Раловец А.Д. 13  
 Раутиан М.С. 64  
 Раушенбах И.Ю. 120  
 Рафаилов А.М. 88  
 Ревещин А.В. 68  
 Реутова Н.В. 195  
 Рогожин Е.А. 107  
 Рогоза Т.М. 56, 61  
 Рогозина А.А. 123  
 Родионов А.В. 19  
 Рожкова В.Т. 162  
 Рожнов В.В. 9  
 Розанов А.С. 51, 141  
 Ролевич А.И. 94  
 Романишко Е.Л. 176  
 Романова А.В. 169  
 Романова Н.И. 16  
 Романов Б.В. 142  
 Романов Г.П. 88  
 Романов Д.А. 7, 15  
 Романов Д.Е. 40, 59  
 Романов Н.С. 12  
 Романюк О.П. 99  
 Ромашкина М.В. 92  
 Россеева Л.П. 129, 148  
 Россеев В.М. 148  
 Рощина Н.В. 15, 89  
 Рубан А.С. 149  
 Рубель А.А. 62  
 Рубцова Г.А. 12, 23

- Рубцова Е.Р. 176  
 Рубцов Н.Б. 89  
 Руденко К.А. 97, 100  
 Рудко А.А. 109  
 Рудько О.И. 93  
 Рузина М.Н. 175  
 Румянцева М.Л. 63, 188, 203  
 Рыбалка О.И. 155  
 Рыбалкина Е.Ю. 122  
 Рыбина О.Ю. 15  
 Рыжкова А.В. 95  
 Рыжкова Н.С. 66  
 Рыжков П.А. 66  
 Рыжова Н.Н. 132  
 Рыжова Т.А. 52, 56, 62  
 Рысков А.П. 7, 24  
 Рябинкова Н.А. 57, 59  
 Рябова Е.В. 90  
 Сабитов Ж. 25  
 Савватеева-Попова Е.В. 37, 121  
 Саввинова К.Е. 88  
 Савельева Е.Н. 17  
 Савельева Н.В. 183  
 Савельев Н.И. 133  
 Савенков В.В. 11  
 Савенко Е.Г. 157  
 Савенко Ю.Н. 122  
 Савина Н.В. 94  
 Савицкая Ю.А. 126, 129  
 Савченко А.П. 69  
 Савченко Я.А. 95  
 Сагитова А.И. 60  
 Саженова Е.А. 85  
 Сазонов А.Э. 103  
 Сайфитдинова А.Ф. 61  
 Саксаганская А.С. 63  
 Салахов Р.Р. 109  
 Салина Е.А. 71, 146, 147, 149  
 Салихова А. 178  
 Салменкова Е.А. 12  
 Салтыкова И.В. 103  
 Сальс Ж. 71  
 Салюкова О.А. 85  
 Самарский В.Г. 192  
 Саматадзе Т.Е. 165, 168  
 Санамьян М.Ф. 171  
 Санина Е.Д. 26  
 Сапельников С.Ф. 190  
 Сапоцкий М.В. 169  
 Сараванский О.Н. 10, 11  
 Саранцева С.В. 90, 108  
 Сасина Л.К. 199  
 Сафронова В.И. 202  
 Свищёва Г.Р. 138  
 Севастьянова Г.А. 9  
 Седов Е.Н. 181  
 Седышева Г.А. 181  
 Селезнева И.И. 96  
 Семенов А.И. 51  
 Семенова В.А. 71  
 Семёнова С.К. 17  
 Сендерович А.И. 93  
 Сергеев А.С. 115  
 Сереброва В.Н. 113  
 Серова З.М. 181  
 Серова Т.А. 203  
 Серов О.Л. 70, 89  
 Сибикеев С.Н. 149  
 Сивицкая Л.Н. 25  
 Сиволапов А.И. 172  
 Сиволапов В.А. 172  
 Сивопляс Е.А. 15  
 Сизова И. А. 39  
 Сизова Т.В. 55  
 Силкова О.Г. 151, 184, 185  
 Симакова Т.С. 87  
 Симаров Б.В. 63, 188, 203  
 Симоненко А.В. 15, 89  
 Симонов А.В. 144, 146  
 Сингх Д. 5  
 Синицкий М.Ю. 200, 201  
 Синявская М.Г. 31, 92  
 Ситникова Т. 4  
 Ситников М.Н. 145  
 Скаженник М.А. 157  
 Скворцова В.И. 102  
 Скворцова Л.А. 198  
 Скоморохова Е.Б. 122  
 Скрябин К.Г. 82  
 Скрябин Н.А. 70, 85, 111, 113  
 Славохотова А.А. 50  
 Слепцов А.А. 112, 113  
 Сломинский П.А. 50, 102, 111, 114, 118, 122  
 Слугина М.А. 62  
 Слынько Ю.В. 8  
 Смирнов А.Ф. 74, 176  
 Смирнова О.Г. 146  
 Смолькина Ю.В. 179  
 Смольков И.В. 100  
 Смуров А.В. 17  
 Соболев В.В. 93  
 Соколов В.С. 64  
 Солдатова О.П. 75  
 Соловей Л.А. 151  
 Соловых Г.Н. 197  
 Соловьев А.В. 88  
 Соловьева А.И. 182  
 Соловьева Н.А. 88  
 Соловьев И.А. 33  
 Солодских С.С. 39  
 Сомова Р.Ш. 99  
 Сонголова Е.Н. 82  
 Сопова Ю.В. 57, 61  
 Сорокина А.В. 96  
 Сорокина С.Ю. 7  
 Сорокин М.А. 125  
 Соснихина С.П. 34  
 Спангенберг В.Е. 98  
 Сперлинг Л. 5  
 Спунер Д. 132  
 Старостин К.В. 141  
 Стахеев В.В. 9, 23  
 Стегний В.Н. 23, 36, 41, 42  
 Стекленева А.Е. 68  
 Степаненко А.И. 155  
 Степаненко Е.В. 155  
 Степанова М.С. 112, 124  
 Степанова Ю.А. 5  
 Степанов В.А. 79, 86, 113  
 Степанов И.В. 174  
 Степченкова Е.И. 30, 46  
 Стецкая Т.А. 110  
 Стойнова Н.В. 178  
 Столбунова В.В. 8  
 Столповский Ю.А. 175  
 Стрельников В.В. 82  
 Строганова А.М. 93  
 Стрыгина К.В. 146  
 Суворова Г.Н. 133  
 Сулимова Г.Е. 138, 175  
 Супрун И.И. 174  
 Суслина С.Н. 168  
 Сулова Е.Г. 17  
 Сулов В.В. 20  
 Сухарева Е.В. 120  
 Сухов А.Г. 123  
 Суходольская Е.М. 24, 119  
 Сухоруков В.Н. 167  
 Сучкова И.О. 123, 199  
 Сушенцева Н.Н. 141  
 Сыртланова Л.А. 12  
 Сычева Е.А. 53  
 Сычева Л.П. 96, 199  
 Сыченкова Н.И. 96  
 Сюков В.В. 136  
 Тактаров В.Г. 105  
 Тарасенко В.И. 70  
 Тарасенко О.А. 104  
 Тарасова М.А. 196  
 Тарасов В.А. 29, 38  
 Тарковская И.В. 188  
 Тарутина Л.А. 166  
 Татаркова Е.А. 100  
 Творогова В.Е. 72, 76  
 Терютин Ф.М. 88  
 Теучеж И.Э. 25  
 Тийс Е.С. 109, 116  
 Тимашева Я.Р. 85  
 Тимкова А.В. 198  
 Тимофеев А.А. 182  
 Тимошкина Н.Н. 29, 38  
 Титаренко А.В. 154  
 Титов А.Ф. 18  
 Титок В.В. 63  
 Тиханович Н.И. 139  
 Тихенко Н.Д. 152



- Тихобаева В.Е. 163  
 Тихомирова Г.М. 197  
 Тихонова М.А. 117, 119  
 Тихонович И.А. 72, 186, 187, 191, 193, 202  
 Тищенко Л.И. 100  
 Ткаченко А.А. 184  
 Тоболова Г.В. 144  
 Токаренко М.Р. 34  
 Токмаков С.В. 174  
 Толебаева А.Д. 107  
 Толкачева А. В. 34  
 Толмачева Е.Н. 70, 85, 115  
 Толочко Т.А. 200  
 Тороп А.А. 155  
 Тороп Е.А. 155  
 Тоцкий И.В. 181  
 Трапезова Л.И. 137  
 Трапезов О.В. 137  
 Трибой Т. 4  
 Трифонова Е.А. 113, 169  
 Трифонов В.А. 139  
 Тростников М. В. 89  
 Трофимова И.Л. 84  
 Трофимов В.А. 92  
 Трубачеева Н.В. 31, 129, 147, 148, 152  
 Трубицина Н.П. 30, 56  
 Трубникова Е.В. 101, 110  
 Трунов Ю.В. 173  
 Трут Л.Н. 138  
 Трухан В.А. 159  
 Трухина А.В. 74, 176  
 Труш Е.И. 90  
 Тугуз А.Р. 97, 100  
 Туктарова И.А. 99  
 Турьева Л.В. 188  
 Тырнов В.С. 179  
 Уварова Ю.Е. 141  
 Угаров И.В. 105  
 Удалов М.Б. 12  
 Удина И.Г. 91  
 Узденский А. Б. 120  
 Ульянова М.В. 91  
 Упелник В.П. 150, 153  
 Урбанович О.Ю. 18  
 Урусов Ф.А. 16  
 Усатов А.В. 34, 163  
 Усатова О.А. 34  
 Усов К.Е. 36, 41  
 Утевская О.М. 86  
 Уткина Е.И. 153  
 Фабарисова Л.Г. 197  
 Фаворов А.В. 49  
 Фаворова О.О. 49  
 Фаддеева Н.В. 120  
 Фазилова Н.Ф. 173  
 Федоренко О.М. 20  
 Федорина Я.В. 191, 202  
 Федорова С.А. 88  
 Федорова Ю.Ю. 112  
 Федосеев А. 121  
 Федотова А.А. 42  
 Федотова Е.Ю. 124  
 Федотов С.А. 44, 121  
 Филатова Е.В. 111, 118, 122  
 Филипенко Е.А. 169  
 Филобок В.А. 128  
 Филоненко Е.С. 68  
 Филюшин М.А. 20  
 Фишман В.С. 89  
 Фоменко Е.И. 73  
 Фоменко М.А. 135  
 Фомичева А.Н. 196  
 Фрейдин М.Б. 109  
 Фролов А.В. 112, 113  
 Фролова С. 25  
 Фурсенко Д.В. 45  
 Хабарова А.А. 70, 73  
 Хайдарова Н.В. 75  
 Хакимова А.Г. 150  
 Халиуллин А.А. 93  
 Хандохов Т.Х. 95  
 Хантимерова Э.Ф. 112  
 Харитонов Е.М. 157  
 Харламова А.В. 138  
 Харченко В.Е. 73  
 Харьков В.Н. 86  
 Хагетфов Э.Б. 160  
 Хидиятова И.И. 100  
 Хидиятова И.М. 100, 103, 104  
 Хлебодарова Т.М. 52  
 Хлесткина Е.К. 51, 63, 144, 149  
 Хляп Л.А. 190  
 Ходарева Д.А. 191  
 Хомутова С.А. 170  
 Хомякова Е.А. 68  
 Хорохорина В.А. 96  
 Хорошинина Л.П. 188  
 Хотляник Н.В. 139  
 Хотылева Л.В. 63, 151, 161, 166  
 Хохлова А.П. 183  
 Хохлов Ю.Н. 23  
 Хоцкин Н.В. 45, 88  
 Хрисанфова Г.Г. 17  
 Хрульнова С.А. 178  
 Хусаинова Р.И. 102  
 Хусаинова Э.М. 198  
 Хуснутдинова Э.К. 88, 93, 100, 102, 103, 104, 112  
 Царев А.П. 173  
 Царева Е.Ю. 49  
 Цаценко Л.В. 194  
 Цветкова Н.В. 34, 152  
 Цветова М.И. 133, 142  
 Целебровский М.В. 40  
 Цыбко А.С. 119  
 Цыбовский И.С. 91  
 Цыганков М.А. 178  
 Цыганова А.В. 190  
 Цыганов В.Е. 77, 190, 194, 203  
 Чайка М.И. 22  
 Чайкин В.В. 155  
 Чесноков Ю.В. 145  
 Чекменева Н.Ю. 140  
 Чекунова А.И. 15  
 Чердынцева Н.В. 111  
 Чередниченко О.Г. 197  
 Черепанова Е.В. 192  
 Черепанова О.Е. 18  
 Чернодубов А.И. 173  
 Чернявская М.М. 9  
 Черняева Е.Н. 48  
 Черская Н.А. 73  
 Честков И.В. 114  
 Чечеткина Н.Н. 85  
 Чижевская Е.П. 202  
 Чиркова Т.В. 96  
 Чистякова А.К. 144  
 Чистяков В.А. 179  
 Чичвархин А.Ю. 26  
 Чичвархина О.В. 26  
 Чичкина А.Н. 9  
 Чугунова А.В. 153  
 Чумаков М.И. 191  
 Чуманова Е.В. 147, 152  
 Чухирь И.Н. 157  
 Чухряева М.И. 25, 86  
 Шабарина А.Н. 32, 43  
 Шавнин С.А. 136  
 Шадрина М.И. 50, 111, 114, 118, 122  
 Шайдуллин И.И. 58  
 Шайкевич Е. В. 14  
 Шаймарданова Э.Х. 103, 104  
 Шаймурданова Д.Б. 102  
 Шайтан К.В. 176  
 Шалагинов С.А. 198  
 Шалгуев В.И. 39  
 Шамалов Н.А. 102  
 Шаманин В.П. 131  
 Шаметов А.К. 201  
 Шамшин И.Н. 133  
 Шапошников М.В. 33, 90  
 Шаптуренко М.Н. 161, 166  
 Шахтарин В.В. 82  
 Шацких А.С. 43  
 Шварц Е.А. 190  
 Шварцман А.Л. 108  
 Швецов А.В. 122  
 Шебанова А.С. 176  
 Шевелёв Ю.Я. 40, 42  
 Шевцова А.А. 89  
 Шевченко О.Г. 90  
 Шереметьева И.Н. 22  
 Шестаков С.В. 54  
 Шеховцов С.В. 141  
 Шибалев Д.В. 24, 119

- Шилина М.А. 98  
 Шилова Л.А. 33  
 Шилов И.А. 97  
 Шимко В.Е. 154  
 Шин Е.Ф. 29, 38  
 Широкова В.В. 23  
 Ширяева А.А. 30, 46  
 Ширяева Н.В. 122  
 Шитова М.В. 23  
 Шишкина А.А. 107, 149  
 Шишкина Г.Т. 118  
 Шкурат М.А. 179  
 Шкурат Т.П. 40, 59, 98  
 Шлыкова С.А. 83  
 Шматкова М.Л. 39  
 Шоева О.Ю. 51, 63, 149  
 Шокарев Р.А. 104  
 Шпак О.В. 9  
 Шпигальская Н.Ю. 10, 11  
 Штарк О.Ю. 191, 193, 202  
 Штрагникова В.Ю. 72  
 Штык Т.И. 151  
 Шувалова А.Р. 132, 167  
 Шуленина Л.В. 107  
 Шульская М.В. 50  
 Шумега А.Р. 57  
 Шумилов Д.С. 100  
 Шумлянская Н.В. 145  
 Шумный В.К. 129  
 Шумская В. 88  
 Шундрин Л.А. 157  
 Шурупов В.Г. 164  
 Щеголев Б.Ф. 121  
 Щелкунов С.Н. 126  
 Щербак В.С. 160  
 Щербакова О.И. 24  
 Щербаков Д.Ю. 4  
 Щербань А.Б. 146  
 Щукина Л.В. 144, 146  
 Эйгес Н.С. 144  
 Эльконин Л.А. 133, 142, 180  
 Эрдман В.В. 99  
 Эткина Э.И. 112  
 Юдина М.А. 23  
 Юдин Н.С. 127  
 Юдкина А.В. 45  
 Юрков А.П. 202  
 Юшкова Е.А. 40  
 Язева А.С. 108  
 Якимович А.В. 161  
 Якоби Л.М. 202  
 Янковский Н.К. 80  
 Яновский А.С. 143, 145  
 Ян Ч. 133  
 Ясаков Т.Р. 60  
 Яхимович А.И. 139
- А**
- Agaska M. 129, 168
- Allam M. 129
- В**
- Blimkie M. 47  
 Börner A. 129, 168  
 Börner M. 168
- С**
- Chase K. 138
- Д**
- Depta A. 168  
 Doroszevska T. 129, 168
- Г**
- Greiner A. 39
- Н**
- Hay F.R. 168  
 Hegemann P. 39
- К**
- Khlestkina E.K. 129  
 Kukekova A.V. 138
- Л**
- Lark K.G. 138  
 Laskowska D. 168  
 Lohwasser U. 129
- М**
- Moustaqil M. 47
- Н**
- Nagel M. 129  
 Neumann K. 129
- Р**
- Rehman Arif M.A. 129

## Геномика

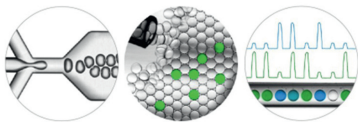
- Секвенирование генов и геномов
- Транскриптомика
- Определение копийности
- Изучение экспрессии генов
- Эпигенетика
- Ранняя диагностика
- SNP-анализ
- Молекулярные маркеры
- Поиск мутаций
- NGS секвенаторы



illumina



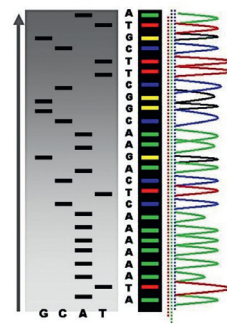
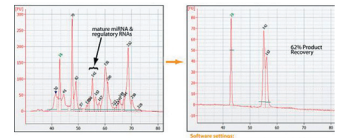
life technologies



BIO-RAD



sage science

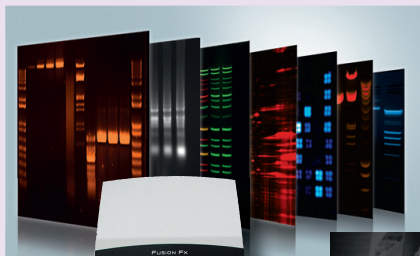


QIAGEN

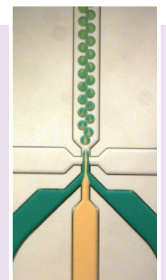
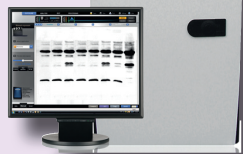


## Протеомика

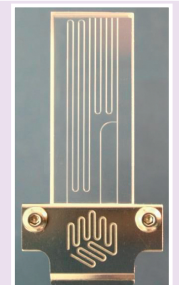
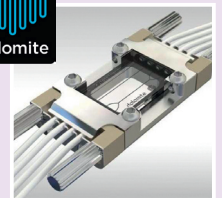
- Мультиплексный анализ
- Выделение, перенос, очистка белков
- Масс – спектрометрия
- Анализ взаимодействий биомолекул
- Турбоблоттинг



VILBER LOURMAT



dolomite



BIO-RAD



BIO-RAD

Диаэм | [www.dia-m.ru](http://www.dia-m.ru)

Москва: ул. Космонавта Волкова, 10 | тел.: (495) 745-0508 | факс: (495) 745-0509 | [info@dia-m.ru](mailto:info@dia-m.ru)

Новосибирск: пр. Ак. Лаврентьева, 6/1 | тел/факс: (383) 328-0048 | [nsk@dia-m.ru](mailto:nsk@dia-m.ru)

Казань: Оренбургский тракт 20, оф. 217 | тел/факс: (843) 277-6040 | [kazan@dia-m.ru](mailto:kazan@dia-m.ru)

Ростов-на-Дону: пер. Семашко, 114 | тел/факс: (863) 250-00-06 | [rnd@dia-m.ru](mailto:rnd@dia-m.ru)





Группа Компаний «АВТех» успешно работает на рынке с 1991 года и имеет большой опыт технологического сопровождения как классических клинических и лабораторных методов исследования и промышленного производства, так и создания и внедрения оригинальных методик.

Мы производим и поставляем аналитическое, научное, лабораторное и биомедицинское оборудование, разрабатываем инновационные проекты, осуществляем консалтинг, сервисное обслуживание, валидацию испытательного, лабораторного и аналитического оборудования.

Наши проекты успешно реализованы в РАН и РАМН, научно-исследовательских центрах и институтах, больницах и ветеринарных клиниках, а также в производственных предприятиях, работающих в таких отраслях как сельское хозяйство, фармацевтика, медицина, биотехнология, косметология, нефтехимия и пищевая промышленность.

Группа компаний АВТех внедряет и использует современные технологии, соответствующие мировому уровню сельскохозяйственной промышленности.

Мы предлагаем полный комплекс услуг по организации чистых производственных помещений в соответствии с европейскими и международными стандартами качества.

Все предприятия проходят комплексную сертификацию, подтверждающую соответствие стандартам GMP и GLP. Успешный опыт работы группы компаний АВТех признан нашими клиентами и партнерами.

Мы осуществляем прямые поставки оборудования от ведущих мировых производителей: **MPW Med.Instruments** - лабораторные и биомедицинские центрифуги; **HAIER** - холодильное и морозильное оборудование; **ESCO** - боксы биологической безопасности, ламинарные и вытяжные шкафы, оборудование для фармацевтического производства и чистых помещений, ПЦР лабораторий; **3W** - оборудование для вивариев, боксы биологической безопасности; **BIOSCAPE** - оборудование для вивариев: клетки, моечные машины, вспомогательное оборудование, оборудование для фармацевтических производств; **Panasonic** - холодильное и морозильное оборудование, автоклавы, лабораторные инкубаторы; **DAIHAN Labtech** - климатические камеры, автоклавы, общелабораторное оборудование; **ebro** - высокоточное измерительное оборудование; **Plas-Labs** - перчаточные боксы, камеры с управляемой атмосферой, оборудование для вивариев; **Analytik Jena** - оборудование для ПЦР лабораторий: гомогенизаторы, оборудование для автоматической пробоподготовки, спектрофотометры, амплификаторы, оборудование для экспресс диагностики токсинов и патогенов; **Conviron** - климатические камеры и камеры для роста растений, научно-исследовательские теплицы и помещения для мониторинга окружающей среды; **MATACHANA** - стерилизационное оборудование.

Сервисный и валидационный Центр Компании и Испытательная лаборатория осуществляют аттестацию оборудования (протоколы IQ, OQ, PQ). Доставка в любой регион России и СНГ, монтаж, гарантийное и послегарантийное обслуживание. ISO 9001:2008. Сертификат соответствия СК №12-02444 до 07.12 2015.



**Компания Хеликон** – крупнейший поставщик в России самого современного оборудования и реактивов для широкого спектра научных исследований, молекулярной диагностики, криминалистики. Клиентами Компании Хеликон являются исследователи в области молекулярной и клеточной биологии, протеомике, молекулярной диагностике, медико-генетической экспертизе и идентификации личности, а также ветеринарии и селекции в сельском хозяйстве.

### **Мы являемся дистрибьютором ведущих мировых брендов:**

Life Technologies,  
Thermo Fisher Scientific,  
BioRad,  
Eppendorf,  
Affymetrix,  
Fluidigm,  
SSI и др.

### **Почему клиенты работают с нами:**

- Мы динамичная, быстро развивающаяся компания.
- Мы являемся не просто дистрибьютором ведущих мировых производителей, но и их методическим и сервисным центром в России.
- Мы всегда на шаг впереди использования и внедрения новых методов и технологий в молекулярной биологии.
- Мы тесно работаем с ведущими биотехнологическими компаниями и известными институтами.
- Мы постоянно проводим практические школы по NGS секвенированию, цитометрии, микроскопии.
- Мы работаем по всей России, имея представительства в 7 регионах.
- Мы обеспечиваем обучение персонала и постоянную методическую поддержку, технический сервис, своевременную доставку оборудования и расходных материалов.

119991 Москва, Ленинские горы, МГУ, д. 1, строение 40,  
НИИ Физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского, Лабораторный корпус «А»  
Телефоны: +7 (499) 705-50-50, +7 (499) 769-51-60 Факс: +7 (495) 930-00-84  
[mail@helicon.ru](mailto:mail@helicon.ru), [helicon.ru](http://helicon.ru)

Представительство в Сибирском регионе:  
г. Новосибирск, ул. Инженерная, д. 28  
+7 (383) 207-84-85, [novosibirsk@helicon.ru](mailto:novosibirsk@helicon.ru)

Представительство в Северо-Западном  
регионе: г. Санкт-Петербург, ул. Ушинского,  
д. 5, корп. 2, лит. А, пом. 1-Н.  
+7 (812) 244-85-52, [spb@helicon.ru](mailto:spb@helicon.ru)

Представительство в Южном регионе:  
г. Ростов-на-Дону,  
ул. 2-я Володарская, д. 76/23а  
+7 (863) 209-88-89, [rostov@helicon.ru](mailto:rostov@helicon.ru)

Представительство в Приволжском регионе:  
г. Казань, ул. Петербургская,  
д. 50, кор. 4, оф. 17  
+7 (843) 202-33-37, [volga@helicon.ru](mailto:volga@helicon.ru)

# РНК амплификация для анализа полного транскриптома

Уникальное решение.

Полнотранскриптомная амплификация в одной пробирке для анализа экспрессии генов. Высокая конкордантность с клинически значимыми генами. Подходит для FFPE образцов.

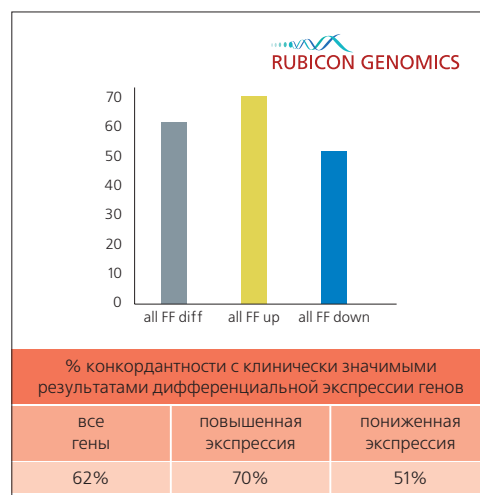
Набор **TransPLEX® C-WTA Kit** оптимизирован специально для полнотранскриптомной амплификации РНК из сложных образцов, таких как FFPE срезы или плазма крови. Возможность работы с крайне небольшим количеством материала (от 10 нг РНК) делает этот набор идеальным для проведения клинических и научных исследований.

Удобный двустадийный протокол позволяет проводить полнотранскриптомную амплификацию в одной пробирке, без переноса материала. Полученные библиотеки амплифицированной РНК можно использовать для проведения ПЦП-исследований (в том числе, анализов с помощью цифровой ПЦП), транскриптомных анализов с помощью биочипов и секвенирования нового поколения.

## Уникальные преимущества набора TransPLEX® C-WTA Kit:

- Всего одна пробирка для амплификации полного транскриптома человека
- Всего 2 шага протокола
- Всего 10-300 нг РНК
- Возможность работы с частично деградировавшими образцами и FFPE срезами (>90% успешных анализов FFPE образцов после использования набора TransPLEX® C-WTA Kit)
- Высокая степень корреляции полученных транскриптов с клинически значимыми генами

52 сложных FFPE образца были амплифицированы с использованием набора **TransPLEX® C-WTA Kit**, а затем проанализированы на биочипах. Результаты показали высокую степень конкордантности результатов полногеномной амплификации с клинически значимыми результатами, как по общему числу генов (62%), так и по числу генов с повышенной (70%) и пониженной (51%) экспрессией.



Компания Rubicon Genomics предлагает выбрать наиболее подходящий набор для Ваших исследований

	PicoPLEX™ DNA-seq Kit	ThruPLEX™- FD Prep Kit	PicoPLEX™ WGA Kit	TransPLEX® C-WTA Kit
Кат. №	R300381	R40048	R30050	RC20050
Описание	Набор для подготовки готовых библиотек ДНК из одной клетки для секвенирования на платформах Illumina	Набор для подготовки готовых библиотек из фрагментированной ДНК, кДНК для секвенирования на платформах Illumina	Набор для полногеномной амплификации ДНК из одной клетки. Стартовое количество материала – от одной копии ДНК	Набор для амплификации РНК из сложных образцов (FFPE, сыворотка крови). Амплифицируется полный транскриптом.
Платформа	Illumina NGS	Illumina NGS	PCR, qPCR, ddPCR, ДНК-биочипы	
Количество материала	1-10 клеток 6-60 пг ДНК	50 пг – 50 нг фрагментированной ДНК	-10 клеток 6-60 пг ДНК	10-300 нг РНК
Пробоподготовка	< 3 часов	< 2 часов	< 2,5 часов	< 3 часов
Кол-во реакций	48	12, 48	50	50
Применения	Анализ копийности генов, анеуплоидии	Полногеномное секвенирование, секвенирование экзомов, анализ транскриптов (кДНК), CHIP-Seq	Анализ копийности генов, анеуплоидии	Анализ экспрессии генов.



Группа компаний «БиоХимМак»

119991 Москва, Ленинские горы, МГУ. Тел.: (495) 939-2121, 647-2740, 932-9214  
E-mail: info@biochemmack.ru, pcr@biochemmack.ru. [www.biochemmack.ru](http://www.biochemmack.ru)





ООО «Агентство Химэксперт»  
Россия, 125009, г. Москва  
ул. Страстной бульвар, д.4, стр. 1

Тел.: +7 (495) 629-28-69  
Тел.: +7 (495) 650-36-66  
E-mail: [info@khimexpert.ru](mailto:info@khimexpert.ru)  
[www.khimexpert.ru](http://www.khimexpert.ru)

Х И М Э К С П Е Р Т

**«Агентство Химэксперт»**  
**- ведущий поставщик оборудования и готовых решений**  
**для молекулярно-генетических исследований**

«Агентство Химэксперт», официальный дилер *Life Technologies* и *Ab Sciex* на территории Российской Федерации, представляет оборудование экспертного класса для секвенирования ДНК, в том числе полупроводникового секвенирования следующего поколения, высокочувствительной цифровой ПЦР и ПЦР в реальном времени, а также приборы и расходные материалы для проточной цитометрии и тандемной масс-спектрометрии.



**Компания предлагает комплексные панели и готовые решения для:**

Инфекционной диагностики (вирусной и бактериальной)  
Диагностики наследственных заболеваний и анеуплоидий  
Молекулярно-генетических исследований в онкологии, кардиологии, фтизиатрии  
Фармакогенетических исследований  
Анализа сельскохозяйственной продукции и контроля биобезопасности  
Генотипирования животных  
Ветеринарии



В 2013 году «Агентство Химэксперт» при содействии компании *Life Technologies* открыла в Москве собственную полнофункциональную лабораторию, действующую как тренинг-центр для клиентов и как исследовательское подразделение.

Приглашаем Вас принять участие в регулярных обученных и школах для биологов и медиков, занятых в сфере генодиагностики, генотипирования и молекулярно-биологических исследований. Расписание и программу предстоящих мероприятий Вы можете найти на нашем сайте: [www.khimexpert.ru](http://www.khimexpert.ru)

В лаборатории также проводится широкий спектр исследований на заказ.

Invitrogen™

Applied Biosystems®

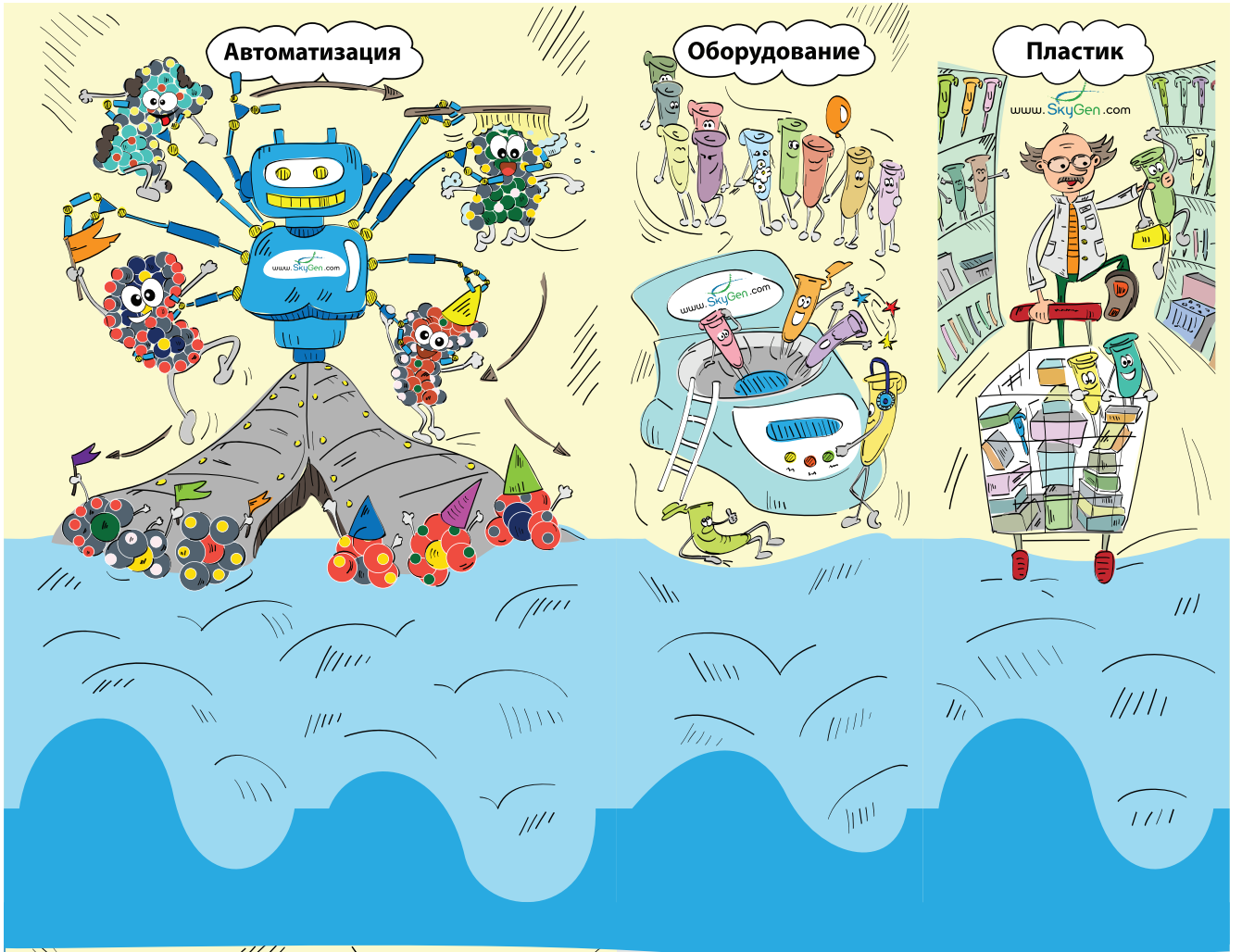
Gibco®

Molecular Probes®

Novex®

Ambion®

Ion Torrent™



NEW ENGLAND  
**BioLabs** Inc.  
*enabling technologies in the life sciences*

Sorenson™  
BioScience, Inc.

**bioSan**

**DORNIER**  
TF

**ZINEXTS**  
Zinexts Life Science Corp.

**TECHNE**

**SkyGen**  
www.skygen.com



# Eppendorf

- > Sample Handling
- > Liquid Handling
- > Cell Handling

Производитель лабораторного оборудования и расходных материалов

Продукция Eppendorf наиболее широко используется в научных лабораториях, а также находит применение в фармацевтической, биотехнологической, химической и пищевой отраслях. Ассортимент включает в себя дозаторы,

амплификаторы, термомиксеры, центрифуги, спектрометры, расходные материалы. С 2007 года линейку продукции дополняют шейкеры, морозильники и CO<sub>2</sub> инкубаторы New Brunswick™ Scientific, а также биореакторы DASGIP®.



ООО «Эппендорф Раша» 115114 Москва, Дербеневская наб., 11, офис Б301  
Тел./Факс: +7 495 743-51-23/22 info@eppendorf.ru www.eppendorf.com

CelliGen® зарегистрированная тм New Brunswick Scientific, Co., Inc., США. Eppendorf® и логотип Eppendorf - зарегистрированные торговые марки. New Brunswick™ является торговой маркой Eppendorf AG, Германия. Все права защищены, включая графику и фотографии. Copyright © 2013 by Eppendorf AG.



*Научное издание*

**VI СЪЕЗД ВАВИЛОВСКОГО ОБЩЕСТВА ГЕНЕТИКОВ  
И СЕЛЕКЦИОНЕРОВ (ВОГиС)  
И  
АССОЦИИРОВАННЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ  
СИМПОЗИУМЫ**

**Тезисы докладов**

Подготовлено к печати  
в редакционно-издательском отделе  
ИЦиГ СО РАН  
630090, Новосибирск, пр. акад. М.А. Лаврентьева, 10

Дизайн и компьютерная верстка: А.В. Харкевич

Подписано к печати 23.05.2014 г.  
Формат бумаги 60 × 84 1/8. Печ. л. 25,8. Уч.-изд. л. 33,1  
Тираж 500. Заказ 109

Отпечатано в типографии ФГУП «Издательство СО РАН»  
630090, Новосибирск, Морской пр., 2