

Гены & Клетки

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ



**VII МОЛОДЁЖНАЯ ШКОЛА-КОНФЕРЕНЦИЯ
по молекулярной и клеточной биологии
Института цитологии РАН**

Санкт-Петербург, 12–15 октября 2020 г.

www.genescells.ru

ИНСТИТУТ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

А.С. Жук¹, А.Э. Романович²,
Е.И. Степченкова^{2,3}, С.Г. Инге-Вечтомов^{2,3}

**МЕТОД ВЫЯВЛЕНИЯ НАРУШЕНИЙ
ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА У ДРОЖЖЕЙ
SACCHAROMYCES CEREVISIAE
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РЕПОРТЕРНОЙ
СИСТЕМЫ *PMFA1-GFP* И ПРОТОЧНОЙ
ЦИТОМЕТРИИ**

¹ Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

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

³ Санкт-Петербургский филиал института общей
генетики им. Н.И. Вавилова, РАН, Санкт-Петербург,
Россия

A.S. Zhuk¹, A.E. Romanovich²,
E.I. Stepchenkova^{2,3}, S.G. Inge-Vechtomov^{2,3}

**FLUORESCENCE DETECTION OF GENOME
INSTABILITY BY *PMFA1-GFP* REPORTER
AND FLOW CYTOMETRY IN YEAST
*SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

¹ ITMO University, Saint-Petersburg, Russia

² Saint Petersburg State University, Saint-Petersburg,
Russia

³ Vavilov Institute of General Genetics, Saint-Petersburg
Branch, Russian Academy of Sciences, Saint-
Petersburg, Russia

ania.zhuk@gmail.com

Разработка новых и совершенствование существующих методов выявления генетических нарушений является актуальной задачей как для изучения фундаментальных механизмов мутагенеза и дестабилизации генома, так и для выявления потенциальной мутагенной активности новых лекарственных средств, пищевых добавок и др. Разрабатываемый нами метод выявления генетических нарушений различных типов основан на особенностях переключения типов спаривания $\alpha \rightarrow a$ у гетероталлических дрожжей *S.cerevisiae* и представляет собой усовершенствованный альфа-тест. Гаплоидные клетки дрожжей могут быть двух типов спаривания: a или α . В норме только клетки противоположных типов a и α могут скрещиваться. Клеточный тип α или a находится под контролем локуса *MAT α* и *MAT a* , соответственно. При нарушении экспрессии локуса *MAT α* клетка α типа спаривания переключает свой тип спаривания на противоположный, приобретая фенотип a , и способность скрещиваться с другими α клетками. В альфа-тесте переключение типа спаривания $\alpha \rightarrow a$ фиксируют по образованию гибридов двух штаммов одинакового типа спаривания α на селективной среде. Повышение частоты переключения типа спаривания $\alpha \rightarrow a$, вызванного повреждением локуса *MAT α* , отражает уровень дестабилизации генома при воздействии мутагеном. Альфа-тест позволяет выявлять широкий спектр генетических нарушений, как наследственные изменения различных типов (генные мутации, потери хромосом и ее плеча, рекомбинационные события), так и временные (предмутационные) изменения генетического материала.

В данной работе мы предложили способ усовершенствования процедуры тестирования, направленный на снижение доли ручного труда при проведении альфа-теста. Для выявления нарушений генетического материала, способных приводить к переключению типа спаривания $\alpha \rightarrow a$, мы предлагаем использовать систему репортерного гена *GFP* под контролем промотора

a-специфичного гена *MFA1* и с помощью проточной цитометрии проводить оценку частоты клеток, переключивших тип спаривания $\alpha \rightarrow a$, по наличию флюоресценции *GFP*. Мы подтвердили эффективность этого подхода с использованием генотоксического вещества камптотецина. Предложенные нами модификации альфа-теста дают возможность сократить объем питательных сред для культивирования дрожжей и ручного труда при проведении тестирования, что позволит в дальнейшем использовать предлагаемую тест-систему как экспресс-метод для быстрого выявления потенциальной мутагенной активности различных веществ.

Работа выполнена при государственной финансовой поддержке ведущих университетов Российской Федерации в рамках программы ITMO Fellowship and Professorship Program, РФФИ 18-34-00130 мол_а и реурсного центра «РМИКТ» научного парка СПбГУ.

А.А. Жукова¹, В.А. Володькина²,
А.Г. Демин³, М.М. Кулак², О.А. Павлова⁴,
С.А. Галкина², А.Ф. Сайфитдинова^{1,4}

**КЛАСТЕР ГЕНОВ РРНК У ЯПОНСКОГО
ПЕРЕПЕЛА (*COTURNIX JAPONICA*)**

¹ Российский государственный педагогический
университет им. А.И. Герцена, Санкт-Петербург,
Россия

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

³ Саратовский государственный медицинский
университет им. В.И. Разумовского Минздрава РФ,
Саратов, Россия

⁴ Международный центр репродуктивной медицины,
Санкт-Петербург, Россия

A. Zhukova¹, V. Volodkina², A. Dyomin³, M. Kulak²,
O. Pavlova⁴, S. Galkina², A. Saifitdinova^{1,4}

JAPANESE QUAIL RRNA GENE CLUSTER

¹ Herzen State Pedagogical University of Russia,
Saint-Petersburg, Russia

² Saint Petersburg State University, Saint-Petersburg,
Russia

³ Saratov State Medical University named after
V.I. Razumovsky, Saratov, Russia

⁴ International center of reproductive medicine,
Saint-Petersburg, Russia

gatteriyagreen@gmail.com

Повторяющиеся кластеры генов рРНК (18S, 5.8S, 28S) составляют чрезвычайно важную часть генома, так как уровень их активности влияет на образование ядрышек, где осуществляется сборка субъединиц рибосом, а также контроль белков, регулирующих клеточный цикл. Несмотря на интенсивные исследования геномов птиц, полная информация об организации кластера генов рРНК есть только для курицы *Gallus gallus* [1]. Цитогенетическими методами было показано наличие трех пар ядрышкообразующих хромосом в кариотипе японского перепела *Coturnix japonica* в отличие от большинства птиц, имеющих только одну пару таких хромосом. Цель настоящего исследования — поиск в доступных базах данных последовательностей, относящихся к кластеру генов рРНК *C.japonica* и их сборке в полную последовательность.

Для анализа были использованы контиги полногеномного секвенирования *C. japonica* (NCBI: LSZSO1004495.1, LSZSO1002975.1, LSZSO1001001.1), последовательность гена 18S *Coturnix pectoralis* (AF173611.1), а также полученные нами клонированные и секвенированные последовательности, содержащие фрагменты гена 18S рНК *C. japonica*. В работе использовали инструменты BLAST, Homology segment analysis и Geneious.

В результате работы был собран фрагмент длиной 4094 п.н. (18S — 1777 п.н., ITS1 — 2160 п.н., 5,8S — 157 п.н.). Для определения границ между генами и внутренними транскрибируемыми спейсерами использовали выполненную ранее сборку рДНК домашней курицы (KT445934). Расшифровка полной последовательности кластера рДНК японского перепела усложнена из-за большого количества повторов, насыщенных GC-парамии. Полученные данные необходимы для создания консенсусной последовательности, которая позволит в будущем собрать кластеры, локализованные на разных хромосомах.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 19-14-50096.

Литература:

1. Dyomin A.G. et al. PLoS ONE. 2016; 11(6): e0157464.

**А.К. Какойченкова^{1,2}, И.В. Жильцов^{1,2},
К.Л. Дедюля², Ю.Н. Орловский¹, А. Бауэр⁴,
Й. Хохаизель⁴, П.В. Назаров³**

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЕКОНВОЛЮЦИИ ТРАНСКРИПТОМНЫХ ДАННЫХ ДЛЯ ОЦЕНКИ КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ СИГНАЛОВ У ПАЦИЕНТОВ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹ Витебский государственный медицинский университет, Витебск, Беларусь

² СООО «Nativita», Минск, Беларусь

³ Luxembourg Institute of Health, Luxembourg

⁴ German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany

**А.К. Kakoichankava^{1,2}, I. Zhyltsou^{1,2},
Y. Arlouski¹, Konstantin Dedyulya⁴, A.S. Bauer⁴,
Jörg D. Hoheisel², P.V. Nazarov³**

DECONVOLUTION OF TRANSCRIPTOMIC DATA SHOWS BIOLOGICALLY AND CLINICALLY RELEVANT SIGNALS IN PANCREATIC TUMOR

¹ Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus

² "Nativita", Minsk, Belarus

³ Luxembourg Institute of Health, Luxembourg

⁴ German Cancer Research Center, Heidelberg, Germany

kakoichenkova95@gmail.com

Рак поджелудочной железы является одним из самых агрессивных новообразований в мире. В среднем пятилетняя выживаемость при раке поджелудочной железы колеблется от 5 до 7% [1]. Специфической этиологии для неоплазии в ткани поджелудочной железы в настоящий момент времени, не выявлено. Однако, ряд исследований демонстрирует, что предрасполагающими факторами для развития рака поджелудочной железы являются: курение, злоупотребление алкоголем, сахарный диабет,

ожирение,отягощенный наследственный анамнез, хронический панкреатит [1]. Молекулярный ландшафт рака поджелудочной железы характеризуется высокой гетерогенностью, что возможно, обуславливает ее способность к ускоренному росту, развитию химиотерапевтической резистентности, инвазии и метастазированию. Среди наиболее распространенных мутаций в образцах PDAC (pancreatic adenocarcinoma — аденокарцинома поджелудочной железы) наиболее часто выявлялись нарушения в генах KRAS, TP53, SMAD4, CDKN2A, TGFBR1,2 и др [1,2].

В нашей работе было проанализировано 736 транскриптомов рака поджелудочной железы из трех баз данных (TCGA — 183, Bailey — 96, DKFZ — 457 образцов соответственно). Для оценки клинически значимых сигналов опухоли, коррелирующих с показателями выживаемости пациентов использовался метод независимых компонент (ICA — independent component analysis), который разделяет сложные сигналы с нормальным распределением на множество статистически независимых сигналов [3]. Анализ данных осуществлялся в режиме динамического программирования при помощи R-Studio. Для проведения ICA использовался пакет consICA (<https://gitlab.com/biomodlii/consica>).

В результате исследования были получены отдельные компоненты, отражающие экспрессию генов, регулирующих физиологические процессы в опухоли поджелудочной железы а также соответствующие различным клеточным типам (раковым, иммунным, клеткам стромы). Был проведен анализ выживаемости с помощью регрессии Кокса и получены кривые Каплана-Майера для каждой компоненты, которые позволили изучить их влияние на выживаемость среди пациентов с раком поджелудочной железы. Анализ сигнальных путей и процессов активированных таковыми проводился с использованием ресурса функциональной аннотации Enrichr.

Было установлено, что активация клеточного цикла, неоангиогенез, пролиферация соединительной ткани, кератинизация и активация ERK-сигнального пути отрицательно коррелирует с выживаемостью у групп пациентов. Положительно влияет на выживаемость сохранение нормальной секреторной активности поджелудочной железы. Влияния таких факторов, как иммунный ответ, пол, нейрогенез на выживаемость пациентов установлено не было.

Работа была выполнена в рамках гранта C17/BM/11664971 «DEMICS» при поддержке Luxembourg Institute of Health, Luxembourg.