

Сибирское отделение Российской академии наук  
Институт химической биологии и фундаментальной медицины

III Всероссийская конференция  
**"Высокопроизводительное секвенирование в геномике"**

19-24 июня 2022 г.  
Новосибирск

**III Всероссийская конференция “Высокопроизводительное секвенирование в геномике”. Тезисы - Новосибирск: Академиздат, 2022.- 122 с.**

ISBN 978-5-6047686-0-0

## Программный комитет

**ак. Власов Валентин Викторович**

(Председатель конференции)

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

**к.б.н. Кабилов Марсель Расимович**

(Ответственный секретарь)

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН,  
ЦКП "Геномика" СО РАН

**чл.-корр. Пышный Дмитрий Владимирович**

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

**д.х.н. Белогуров Алексей Анатольевич**

Институт биоорганической химии

им. ак. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН

**д.х.н. Карпова Галина Георгиевна**

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

**д.б.н. Трифонов Владимир Александрович**

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН

**к.б.н. Баттулин Нариман Рашитович**

Институт цитологии и генетики СО РАН

**к.б.н. Денисов Евгений Владимирович**

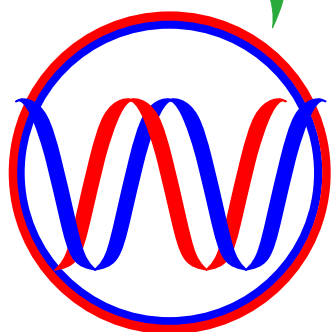
НИИ онкологии Томского НИМЦ

**к.б.н. Логачева Мария Дмитриевна**

Сколковский институт науки и технологии

**ОРГАНИЗАТОРЫ**

**ГЕ ЦКП  
ОМИКА**



**ИХБФМ СО РАН**



**СО РАН**



**МинОбрНауки**





При поддержке МинОбрНауки  
(проект № 075-15-2021-1085)

---

## Генеральный спонсор



---

## Спонсоры



---

## Партнеры



# Цифровая ПЦР

ДИА•М

современная лаборатория

Цифровая ПЦР позволяет получить абсолютные значения (число копий на реакцию) без использования стандартной кривой, дает возможность обнаружить редкий вариант мишени в сложном окружении и детектирует единичные молекулы матрицы даже при низкой концентрации в образце.

## Система для цифровой капельной ПЦР QX200, Bio-Rad

- Анализ **до 96 образцов за запуск**
- Два канала детекции флуоресценции
- Оптимизирована для красителей TaqMan, EvaGreen



## Система для цифровой капельной ПЦР QX ONE, Bio-Rad

- Единый прибор для всех этапов цифровой капельной ПЦР
- Возможность анализа **до 480 образцов за прогон**
- Четыре канала измерения флуоресценции



## Цифровая ПЦР на чипе QuantStudio 3D, Thermo FS

- Принцип генерирования микрореакций, путем распределения реакционной смеси на чипе
- Время прочтения 1 чипа – 30 сек
- Детектируемые красители – FAM/SYBR Green, VIC, ROX



## QuantStudio Absolute Q, Thermo FS

- Единый прибор для всех этапов цифровой ПЦР
- Абсолютное определение количества мишени за 90 минут
- Простой процесс подготовки реакции,
- Четыре оптических канала системы,
- Использование не менее 95% загружаемого образца, (у других систем – от 30% до 70% загружаемого образца не используется в реакции)



ЛАБОРАТОРНОЕ ■ ОБОРУДОВАНИЕ ■ ПЛАСТИК ■ СТЕКЛО ■ РЕАКТИВЫ ■ НАБОРЫ

[www.dia-m.ru](http://www.dia-m.ru)

Заказ онлайн


# Реакционные смеси для прямой амплификации **BiOptic, Inc.**

Двукратная готовая к использованию реакционная смесь DirectGO™-CE содержит реакционный буфер, нуклеотиды, глицерин, добавки (ПЦР-энхансеры) и рекомбинантную Taq-полимеразу с горячим стартом, которая

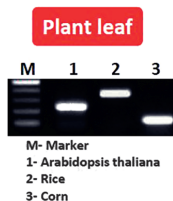
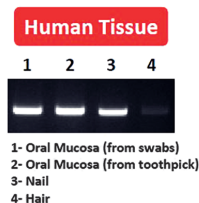
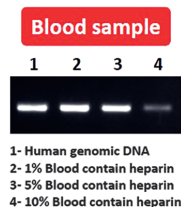
1. Позволяет проводить ПЦР непосредственно в образце, в том числе в цельной крови, клеточных линиях и гомогенате растительных тканей, исключая этап выделения и очистки ДНК, что экономит затраты времени и реагентов;
2. Отличается стабильностью: сохраняет активность при 37°C в течение 3 дней, незамороженной (при 4°C) — в течение двух недель, в замороженном виде — до 1,5 лет;
3. Улучшает качество отжига (сокращает количество неспецифических ампликонов);
4. Сокращает время ампликации

Наборы DirectGO™ отличаются хорошим качеством, воспроизводимостью и совместимы со множеством образцов.

## DirectGO PCR Premix



Sample Source	DirectGO
Rice leaf	V
Corn leaf	V
Tomato leaf	X
Arabidopsis leaf	V
Orchid leaf	X
Human Heparin whole blood	V
Human EDTA whole blood	V
Human Citrate whole blood	V
Oral swab	V
E.coli colony PCR	V
Diatom colony PCR	V
Cell culture	V



- ✓ **High tolerance of sample source**
- ✓ **No extraction for sample preparation**
- ✓ **Hot Start to reach high specificity**
- ✓ **Master mix to simplify operation**

Запрашивайте информацию об автоматизированных системах капиллярного электрофореза Qsep, а также реакционных смесях ExpressGO™ с усилением сигнала флуоресцентной детекции электрофорезом в капилляре и AccuGO с рекомбинантной Pfu ДНК-полимеразой с 3'-5' редактированием (высокоточная амплификация «тупых» фрагментов до 10 kb длины с высоким содержанием GC-пар).



Кат. номер	Наименование	Объём	Количество
C108200 CE	Набор DirectGO™ PreMix CE2X PCR Master Mix	1,25 мл	100 реакций
C108100 CE	Набор ExpressGO™ PreMix CE2X PCR Master Mix	1,25 мл	100 реакций
C108300	Набор AccuGO™ Pfu Proofreading DNA Polymerase	50 мкл	

ISO 9001



ЗАО «БиоХимМак»,  
119192, г. Москва, Ломоносовский проспект, дом 29, корпус 1,  
телефон (495) 647-27-40, (495) 939-2121,  
E-mail: [info@biochemmack.ru](mailto:info@biochemmack.ru)



Компания **Oxford Nanopore Technologies** предоставляет решения для различных экспериментов по секвенированию нуклеиновых кислот, а разнообразие приборов и реагентов позволяет подобрать оптимальные условия для своих задач.

Нанопровое секвенирование - это уникальная масштабируемая технология, которая позволяет проводить прямой анализ фрагментов ДНК или РНК любой длины в режиме реального времени. Он работает, отслеживая изменения электрического тока при пропускании нуклеиновых кислот через белковую нанопору. Результирующий сигнал декодируется для получения конкретной последовательности ДНК или РНК.



**Неограниченная длина прочтения**, которая даёт максимальную гибкость, более простую сборку генома, позволяет учитывать структурные варианты и повторы.



**Анализ в реальном времени** даёт немедленный доступ к практическим результатам, что позволяет проводить раннюю оценку образцов и контроль качества.



**Прямое секвенирование** позволяет анализировать последовательность нативной ДНК или РНК, а не их копии.



**Масштабируемость** достигается благодаря единой технологии для всех устройств, а компактное высокопроизводительное настольное секвенирование благодаря приборам GridION™ и PromethION™



**Упрощенная подготовка библиотек** при помощи наборов Rapid может занимать всего 10 минут. А также возможна максимизация пропускной способности с помощью баркодирования.



**Управляйте секвенированием:** можно секвенировать только то, что вам необходимо, ставить секвенирование на паузу или останавливать после получения достаточного количества данных.



## СОДЕРЖАНИЕ

Программный комитет .....	3
Организаторы .....	4

### Секция «Геномика растений»

НА ПУТИ К СОЗДАНИЮ ПАНГЕНОМА ЛЬНА <b>Дворянинова Е.М.</b> , Большева Н.Л., Борхерт Е.В., Новаковский Р.О., Пушкова Е.Н., Сигова Е.А., Рожмина Т.А., Мельникова Н.В., Дмитриев А.А. ....	19
ОПЫТ СБОРКИ ГЕНОМОВ ПОЛИПЛОИДНЫХ ОРГАНИЗМОВ НА ПРИМЕРЕ ТЕТРАПЛОИДА <i>CAPSELLA BURSA-PASTORIS</i> Касьянов А.С., Макаренко М.С., <b>Пенин А.А.</b> .....	20
МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ КЛЮЧЕВЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ <i>FAD3A</i> И <i>FAD3B</i> , ОТВЕТСТВЕННЫХ ЗА СОДЕРЖАНИЕ ЛИНОЛЕВОЙ И ЛИНОЛЕНОВОЙ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ЛЬНЯНОМ МАСЛЕ <b>Повхова Л.В.</b> , Рожмина Т.А., Фрыкин Р.И., Дмитриев А.А., Мельникова Н.В. ....	21
RECONSTRUCTION AND ANALYSIS OF PANGENOME OF SIBERIAN CULTIVARS OF POTATO <i>SOLANUM TUBEROSUM</i> Karetnikov D.I., Genaev M.A., Nesterov M.A., Shmakov N.A., Ibragimova S.M., Vasiliev G.V., Toschakov S.V., Gavrilenko T.A., <b>Afonnikov D.A.</b> , Salina E.A., Patrushev M.V., Kochetov A.V. ....	22
A CASE OF HYBRID MITOCHONDRIAL GENOME IN WILD PEAS ( <i>PISUM SATIVUM</i> L SUBSP. <i>ELATIUS</i> (BIEB.) SCHMALH.) <b>Богданова В.С.</b> , Шацкая Н.В., Костерин О.Э., Васильев Г.В. ....	23
ANNOTATION OF SIBERIAN LARCH REFERENCE GENOME, THE ONLY SEASONAL SENESCENCE GENUS IN PINACEAE <b>Bondar E.I.</b> , Feranchuk S.I., Miroshnikova K.A., Sharov V.V., Kuzmin D.A., Oreshkova N.V., Krutovsky K.V. ....	24
GENOME AND TRANSCRIPTOME OF AN INVASIVE PLANT SPECIES <i>HERACLEUM SOSNOWSKYI</i> <b>Logacheva M.D.</b> , Schelkunov M.I., Shtratnikova V. Yu., Hardy G., Makarenko M.S., Penin A.A. ....	25

### Секция «Белок-НК, НК-НК взаимодействия и трансляция»

ДИСКРЕТНОСТЬ МОДУЛЯЦИИ АМПЛИТУДЫ СИГНАЛА ПРОТЕАСОМНОЙ ДЕГРАДАЦИИ <b>Белогуров А.А.</b> , Кудряева А.А. ....	26
БЕЛОК-КОДИРУЮЩИЙ ПОТЕНЦИАЛ ПОВТОРЯЮЩИХСЯ ЭЛЕМЕНТОВ ГЕНОМА ЧЕЛОВЕКА Егоров А.А., Буян А.И., Сорокин И.И., Нагимов Р.Д., Гладышев В.Н., Кулаковский И.В., <b>Дмитриев С.Е.</b> .....	27

СЕЛЕКЦИЯ НОВОГО АПТАМЕРА К SARS-CoV-2 С ПОМОЩЬЮ НАНОПОРНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ Грабовенко Ф.И., Никифорова Л.А., Хренова М.Г., Спиридонова В.А., <b>Зверева М.Э.</b> .....	28
АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ФАГОВОГО ДИСПЛЕЯ НА ПЛАТФОРМЕ ИОН <b>Колосова Е.А.</b> , Бондарь А.А., Шаповал А.И., Щербаков Д.Н., Морозов И.В.....	29
СИКВЕНС-СПЕЦИФИЧНОСТЬ БЕЗМАТРИЧНОГО СИНТЕЗА НУКЛЕОТИДТРАНСФЕРАЗЫ ЧЕЛОВЕКА <b>Кузнецова А.А.</b> , Тупикин А.Е., Кабилов М.Р., Кузнецов Н.А. ....	30
РЕДАКТИРОВАНИЕ ИНТРОНОВ С ПОМОЩЬЮ CRISPR/CAS9 И ПОСЛЕДУЮЩИЙ ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ <b>Матвеева А.М.</b> , Журавлев Е.С., Семенов Д.В., Власов В.В., Степанов Г.А. ....	31
СЕЛЕКЦИЯ АПТАМЕРОВ К БЕЛКУ DKK-1 ИЗ ДНК-БИБЛИОТЕКИ С НЕРАВНОМЕРНОЙ СЛУЧАЙНОЙ ОБЛАСТЬЮ <b>Шатунова Е.А.</b> , Тимошенко В.В., Кабилов М.Р., Королев М.А., Воробьева М.А. ....	32
KNOCKDOWN OF RIBOSOMAL PROTEIN $\epsilon$ L38 IN MAMMALIAN CELLS LEADS TO A SUBSTANTIAL REORGANIZATION OF GENOMIC TRANSCRIPTION AND CHANGES IN THE TRANSLATIONAL EFFICIENCY OF SPECIFIC GENES <b>Kolobova A.V.</b> , Gopanenko A.V., Tupikin A.E., Kabilov M.R., Malygin A.A., Karpova G.G. ....	33
EXPLOITING NEXT GENERATION SEQUENCING IN STUDIES OF GENE EXPRESSION DISORDERS CAUSED BY A CELLULAR DEFICIENCY OF RIBOSOMAL PROTEINS OR MUTATIONS IN THEM <b>Malygin A.A.</b> , Babaylova E.S., Kolobova A.V., Gopanenko A.V., Tian Y., Tupikin A.E., Kabilov M.R., Karpova G.G. ....	34
TOE-SEQ: A NEW METHOD TO MONITOR <i>IN VITRO</i> TRANSLATION AT HIGH THROUGHPUT SCALE Kabilov M.R., Komarova E.S., Zotova P.A., Volynkina I.A., Pavlova J.A., Tupikin A.E., Osterman I.A., Pyshnyi D.V., Dontsova O.A., <b>Sergiev P.V.</b> .....	35
TRANSCRIPTOME CHANGES CAUSED BY MUTATIONS IN THE <i>RPS20</i> GENE ASSOCIATED WITH A PREDISPOSITION TO HEREDITARY NON- POLYPOSIS COLORECTAL CARCINOMA <b>Tian Y.</b> , Babaylova E.S., Gopanenko A.V., Tupikin A.E., Kabilov M.R., Malygin A.A., Karpova G.G. ....	36
THE ROLE OF HYDROXYLATION OF THE HUMAN RIBOSOMAL PROTEIN $\alpha$ L15 IN THE REGULATION OF GENE EXPRESSION AT THE LEVEL OF TRANSLATION <b>Zolotenkova E.A.</b> , Gopanenko A.V., Tupikin A.E., Kabilov M.R., Malygin A.A., Karpova G.G. ....	37

## Секция «NGS методы и анализ данных»

ДНК-БАРКОДИРОВАННЫЕ СЕНСОРЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕХАНИЗМОВ ИНТЕГРАЦИИ ТРАНСГЕНОВ В ГЕНОМ Смирнов А.В., Юнусова А.М., <b>Баттулин Н.Р.</b> .....	38
ПОЛУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТРАНСПОЗАЗЫ TN5 ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ NGS БИБЛИОТЕК <b>Большаков А.Д.</b> , Кабилов М.Р.....	39
ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ТЕХНОЛОГИИ СЕКВЕНИРОВАНИЯ OXFORD NANOPORE ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ГЕРМИНАЛЬНЫХ МУТАЦИЙ <b>Кечин А.А.</b> , Боробова В.С., Субботина К.В., Боярских У.А., Тархов А.В., Филипенко М.Л. ....	40
НОВЫЙ МЕТОД СРАВНЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, НЕ ИСПОЛЬЗУЮЩИЙ ИДЕЮ ВЫРАВНИВАНИЯ Молякко А.А., <b>Садовский М.Г.</b> , Каропова Е.Д., Боровиков И.А. ....	41
ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДЛЯ ИНТЕРПРЕТАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ NGS WIZARD <b>Помазной М.Ю.</b> , Вяткин Ю.В., Тарасенко Е.Ф., Старчевская М.А., Штокало Д.Н. ....	42
ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ ПОЛОЖЕНИЕ БАКТЕРИЙ КОРРЕЛИРУЕТ С ТРИПЛЕТНЫМ СОСТАВОМ ИХ ГЕНОВ 16S РНК Абрамов В.Г., <b>Садовский М.Г.</b> , Моргун А.В., Тетерлева А.А., Ларионова И.А. ....	43
ЕДИНАЯ ГЕНОМ-ЦЕНТРИРОВАННАЯ ВЫСОКОСТРУКТУРИРОВАННАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ АНАЛИЗА И ИНТЕРПРЕТАЦИИ ОМИКСНЫХ ДАННЫХ <b>Шлихт А.Г.</b> , Краморенко Н.В.....	44
РАЗРАБОТКА ХИМИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ К СНИЖЕНИЮ УРОВНЯ ОШИБОЧНОСТИ В СОСТАВЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ ДЛЯ СБОРКИ ГЕННЫХ КОНСТРУКЦИЙ <b>Яковлева К.И.</b> , Переверзев И.М., Довыденко И.С.....	45
APPLICATION OF HI-C GENOME SCAFFOLDING TO IMPROVE CYTOGENETIC CHROMOSOME MAPS AND DETECT GENOMIC REARRANGEMENTS <b>Fofanov M.V.</b> , Prokopov D.Yu., Trifonov V.A., Davletshina G.I., Lemskaya N.A., Beklemisheva V.R., Proskuryakova A.A., Kliver S.F., Khan R., Aiden E., Graphodatsky A.S., Perelman P.L. ....	46

## Секция «Геномика прокариот и вирусов»

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИЙ ГЛУБОКОГО ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПРОФИЛИРОВАНИЯ МИКРОБИОМА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ <i>VACILLUS</i> <b>Баранова М.Н.</b> , Терехов С.С., Мокрушина Ю.А., Куджаев А.М., Смирнов И.В., Габибов А.Г.....	47
---	----



ПРОФАГОВЫЕ ОБЛАСТИ В ГЕНОМАХ <i>CURTOBACTERIUM</i> SPP. И <i>CURTOBACTERIUM FLACCUMFACIENS</i> PV. <i>FLACCUMFACIENS</i> : ГЕНОМИКА И БЕЛКИ, РАЗРУШАЮЩИЕ КЛЕТОЧНУЮ СТЕНКУ <b>Евсеев П.В.</b> , Лукьянова А.В., Токмакова А.Д., Шнейдер М.М., Игнатов А.Н., Попова А.В., Мирошников К.А. ....	48
НОВЫЕ ШТАММЫ ПРОКАРИОТ, ОБЛАДАЮЩИЕ МЕТАНОТРОФНОЙ АКТИВНОСТЬЮ <b>Кадуцкий В.К.</b> , Евграфова С.Ю., Кабилов М.Р., Батурина О.А., Кривобоков Л.В., Лашинский Н.Н., Прудникова С.В. ....	49
ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕХАНИЗМА УПАКОВКИ ДНК И КОНЦОВ ХРОМОСОМЫ БАКТЕРИОФАГОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ NGS И RAGE Казанцева О.А., <b>Шадрин А.М.</b> ....	50
ПОЛНОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ <i>NEISSERIA GONORRHOEAЕ</i> И УСТОЙЧИВОСТЬ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ <b>Кандинов И.Д.</b> , Кравцов Д.В., Винокурова А.С., Горшкова С.А., Шаскольский Б.Л., Дементьева Е.И., Грядунов Д.А. ....	51
ДЖАМБО-ФАГ <i>SINORHIZOBIUM MELILOTI</i> <b>Козлова А.П.</b> , Мунтян В.С., Румянцева М.Л. ....	52
ИЗУЧЕНИЕ СТРАТЕГИЙ ВЫЖИВАНИЯ БАКТЕРИЙ <i>VACILLUS</i> <i>THURINGIENSIS</i> В ОРГАНИЗМЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО И РЕЗИСТЕНТНОГО ХОЗЯИНА <b>Крыцына Т. И.</b> , Гризанова Е. В., Терещенко Д.С., Дубовский И. М. ....	53
ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ГОМЕОСТАЗА МЕДИ У <i>L. BORONITOLERANS</i> <b>Миронова Т.Е.</b> , Батурина О.А., Афонюшкин В.Н., Кабилов М.Р. ....	54
ПЛАЗМИДНЫЕ ПРОФАГИ <i>VACILLUS CEREUS</i> МОГУТ БЫТЬ ИСТОЧНИКОМ БОГАТОГО РАЗНООБРАЗИЯ ФАГОВ Пилигримова Э.Г., Казанцева О.А., Казанцев А.Н., Никулин Н.А., Скорынина А.В., Копосова О.Н., <b>Шадрин А.М.</b> ....	55
ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ПРОДУКЦИЯ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ В МЕТИЛОТРОФНЫХ ДРОЖЖАХ <i>PICHLIA PASTORIS</i> <b>Пипия С.О.</b> , Мирзоева Н.З., Мокрушина Ю.А., Габитов А.Г., Смирнов И.В., Терехов С.С. ....	56
НАНОПОРНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ И АНАЛИЗ ДАННЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЕНОМОВ <b>Хренова М.Г.</b> , Родин В.А., Панова Т.В., Лукьянов Д.А., Остерман И.А., Зверева М.Э. ....	57
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ <i>WOLBACHIA PIPIENTIS</i> , РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ВЛИЯНИЮ НА СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТЬ <i>DROSOPHILA MELANOGASTER</i> <b>Шишкина О.Д.</b> , Андрееenkova О.В., Клименко А.И., Коренская А.Е., Васильев Г.В., Шацкая Н.В., Груntenko Н.Е. ....	58



INVESTIGATION AND CLINICAL EVALUATION OF ANTI-SARS-COV-2  
NOVEL NUCLEOSIDE ANALOGUE

Mansour O., Komissarov A.B., Potekhin A.A. ....59

**Секция «Метагеномика»**

**ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ СОСТАВ СООБЩЕСТВ**

**СУЛЬФАТРЕДУЦИРУЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ В ДОННЫХ  
ОТЛОЖЕНИЯХ БАРЕНЦЕВА МОРЯ НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ДАННЫХ  
ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ФРАГМЕНТОВ  
ГЕНА 16S рРНК**

**Брюханов А.Л.**, Кадников В.В., Царовцева И.М., Саввичев А.С. ....60

**ДИНАМИКА БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ ПЕЛАГИАЛЬНОЙ  
И ЛИТОРАЛЬНОЙ ЗОН ОЗЕРА БАЙКАЛ В ПЕРИОД ПРЯМОЙ  
ТЕМПЕРАТУРНОЙ СТРАТИФИКАЦИИ**

Галачьянц А.Д., Зименс Е.А., Краснопеев А.Ю., Тихонова И.В., Потапов С.А.,  
Подлесная Г.В., Сусллова М.Ю., Суханова Е.В., Горшкова А.В., Белых О.И. ....61

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ПОДХОДОВ  
ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ПРИ АНАЛИЗЕ  
МИНИМАЛЬНЫХ ЦЕЛЛЮЛОЗОЛИТИЧЕСКИХ МИКРОБНЫХ  
СООБЩЕСТВ**

**Гладков Г.В.**, Лисина Т.О., Кимеклис А.К., Кичко А.А., Афонин А.М.,  
Андронов Е.Е. ....62

**МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ КАК ИНСТРУМЕНТ ОЦЕНКИ АКТИВНОСТИ  
И СТРУКТУРЫ СООБЩЕСТВ МЕТАНОГЕННЫХ АРХЕЙ В ДОННЫХ  
ОТЛОЖЕНИЯХ РЕКИ ЕНИСЕЙ**

**Децура А.Е.**, Евграфова С.Ю., Зверев А.А., Абакумов Е.В., Прокушкин А.С. ....63

**СОСТАВ И СТРУКТУРА АРХЕЙ В БИОПРЕПАРАТЕ «ТОР-ОРГАНИК»**

Рубцов А.А., **Заушинцена А.В.** ....64

**ПО ТУ СТОРОНУ МЕТАБАРКОДИНГА: ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ**

**Кабиллов М.Р.** ....65

**МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОМНЫХ И ТРАНСКРИПТОМНЫХ  
ДАННЫХ НАСЕКОМЫХ СЕМЕЙСТВА SIMULIIDAE И CERATOROGOIDAE**

**Каманова Е.П.**, Старчевская М.Е., Антоненц Д.В. ....66

**МЕТАБАРКОДИНГ СООБЩЕСТВ НИЗШИХ ГРИБОВ,  
АССОЦИИРОВАННЫХ С ВОДОРΟΣЛЯМИ ОЗ. БАЙКАЛ**

**Минчева Е.В.**, Полякова М.С., Букин Ю.С., Кабиллов М.Р., Тупикин А.Е.,  
Щербачков Д.Ю. ....67

**ИССЛЕДОВАНИЕ БИОАЭРОЗОЛЕЙ НА ТЕРРИТОРИИ РФ**

Охлопкова О.В., Маслов А.А., Карташов М.Ю., Андреева И.С., Малышев Б.С.,  
Трегубчак Т.В., Швалов А.Н., **Мошкин А.Д.**, Астахова Е.М., Терновой В.А.,  
Сафатов А.С., Белан Б.Д. ....68

БАКТЕРИОБИОМ В КОРНЯХ РАСТЕНИЙ ТОМАТА ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ В ОТКРЫТОМ ГРУНТЕ	
<b>Наумова Н.Б.</b> , Батурина О.А., Тупикин А.Е., Аликина Т.Ю., Кабилов М.Р.....	69
МИКОБИОМ В КОРНЯХ РАСТЕНИЙ ТОМАТА ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ В ОТКРЫТОМ ГРУНТЕ	
<b>Наумова Н.Б.</b> , Батурина О.А., Тупикин А.Е., Аликина Т.Ю., Кабилов М.Р.....	70
МИКРОБИОМ АЭРОЗОЛЕЙ ПРИЗЕМНОГО И НИЖНЕГО СЛОЕВ ТРОПОСФЕРЫ	
<b>Наумова Н.Б.</b> , Батурина О.А., Тупикин А.Е., Аликина Т.Ю., Андреева И.С., Олькин С.Е., Сафатов А.С., Козлов А.С., Белан Б.Д., Фофонов А.В., Кабилов М.Р.....	71
МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД ИЗ ПРИБРЕЖНЫХ АКВАТОРИЙ ПРИМОРСКОГО КРАЯ	
Дункай Т.И., Богатыренко Е.А., Ким А.В., <b>Писарева Е.О.</b> .....	72
МЕТАГЕНОМИКА БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ КОЛОРАДСКОГО ЖУКА: ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИЙ НА РАЗВИТИЕ ПАТОГЕНЕЗОВ И ТОКСИКОЗОВ	
<b>Поленогова О.В.</b> , Ярославцева О.Н., Клементьева Т.Н., Аликина Т., Кабилов М.Р., Крюков В.Ю., Глупов В.В. ....	73
МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ТЕХНОГЕННО НАРУШЕННЫХ ПОЧВ	
<b>Серзетдинова Ю.Р.</b> , Фотина Н.В., Асякина Л.К., Осинцева М.А. ....	74
МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ВИРОМА LERTINOTARSA DECEMLINEATA	
<b>Старчевская М.Е.</b> , Каманова Е.П., Вяткин Ю.В., Трегубчак Т.В., Бауэр Т.В., Роцкая У.Н., Косман Е.С., Антонец Д.В.....	75
МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ГОРЯЧИХ ИСТОЧНИКОВ КАРМАДОНСКОГО УЩЕЛЬЯ, СЕВЕРНАЯ ОСЕТИЯ	
<b>Тощак С.В.</b> , Виноградова Е.Н., Изотова А.О., Корженков А.А., Качмазов Г.С., Патрушев М.В.....	76
ВЗАИМОСВЯЗЬ СТРУКТУРЫ МИКРОБИОМА ПОЧВ КАРТОФЕЛЬНЫХ ПОЛЕЙ С УРОВНЕМ ФУНГИСТАЗИСА	
<b>Ярославцева О.Н.</b> , Черткова Е.А., Кривопапов А.В., Аликина Т.Ю., Поленогова О.В., Кабилов М.Р., Крюков В.Ю. ....	77
TRILATERAL RELATIONSHIP: FOOD-BORNE TREMATODES, MICROBIOTA, AND EXPERIMENTAL HOST	
<b>Pakharukova M.Y.</b> , Lishai E.A., Zapparina O., Baginskaya N.V., Mordvinov V.A.....	78
THE IMPACT OF CFTR MODULATOR THERAPY ON THE RESTORATION OF THE NORMAL LUNG MICROBIOME	
<b>Voronina O.L.</b> , Ryzhova N.N., Aksenova E.I., Kunda M.S., Amelina E.L., Gintsburg A.L. ....	79

**Секция «Геномика животных»**

ПОИСК ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО ЭКСПРЕССИРУЮЩИХСЯ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ГИБРИДНОЙ СТЕРИЛЬНОСТЬЮ У ПОЛЕВОК <i>MICROTUS ROSSIAEMERIDIONALIS</i> И <i>MICROTUS MYSTACINUS</i> <b>Бикчурина Т.И.</b> .....	80
ГЕНОМНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ 5S рРНК ГЕНОВ У ПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ Демин А.Г., Давидьян А.Г., Галкина С.А., Гагинская Е.Р.....	81
СЕКВЕНИРОВАНИЕ ПОЛНЫХ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ГЕНОМОВ БЕЛУГ ИЗ АРХЕОЛОГИЧЕСКИХ РАСКОПОК ПОВОЛЖЬЯ Давлетшина Г.И., Молодцова А.С., Воробьева Н.В., Аськеев И.В., Аськеев О.В., Аськеев А.О., Шаймуратова Д.Н., Трифонов В.А. ....	82
ОРГАНИЗАЦИЯ МЕЖГЕННОГО СПЕЙСЕРА РИБОСОМНОЙ ДНК (IGS) У ПТИЦ Демин А.Г., Галкина С.А., Давидьян А.Г., Гагинская Е.Р.....	83
ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ АССОЦИИРОВАННЫХ С АПОПТОЗОМ И КАНЦЕРОГЕНЕЗОМ В ГИПОТАЛАМУСЕ МЫШЕЙ: ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО СОЦИАЛЬНОГО СТРЕССА Коваленко И.Л., Галямина А.Г., Смагин Д.А., Кудрявцева Н.Н. ....	84
ТРАНСКРИПТОМИКА УХА РЕГЕНЕРИРУЮЩИХ ИГЛИСТЫХ МЫШЕЙ <i>АСОМЫС САНИРИНУС</i> НА УРОВНЕ ЕДИНИЧНЫХ КЛЕТОК Козлова О.С., Билялов А.И., Несмелов А.А., Газизова Г.Р., Шагимарданова Е.И., Гусев О.А. ....	85
ГЕНОТИПИРОВАНИЕ МАКАК-РЕЗУСОВ ПО ГЕНАМ ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ <i>Mamu-A</i> И <i>Mamu-B</i> С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАНОПОРОВОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ Котова Е.С., Каныгина А.В., Желанкин А.В., Бабенко В.В., Болдырева Д.И., Генерозов Э.В., Шарова Е.И. ....	86
ХРОМОСОМНЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ В ЭВОЛЮЦИИ ГЕНОМА НИЛЬСКОГО КРОКОДИЛА ( <i>CROCODYLUS NILOTICUS</i> , CROCODYLIDAE, REPTILIA) Романенко С.А., Проскуракова А.А., Прокопов Д.Ю., Давлетшина Г.И., Фофанов М.В., Кабилов М.Р., Трифонов В.А. ....	87
ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПРЕДКОВЫХ СИНТЕННЫХ БЛОКОВ И ПОЛОВЫХ ХРОМОСОМ У ЙЕМЕНСКОГО ХАМЕЛЕОНА ( <i>CHAMAELEO</i> <i>CALYPTRATUS</i> , IGUANIA, REPTILIA) Тишаква К.В., Прокопов Д.Ю., Давлетшина Г.И., Трифонов В.А. ....	88
MODULATION OF THE EXPRESSION OF GENES RELATED TO THE NEUROINFLAMMATION, AUTOPHAGY, AND NEURODEGENERATION IN THE BRAIN BY THE CENTRAL ADMINISTRATION OF AMYLOID- BETA IN MICE Tikhonova M.A., Belichenko V.M., Bashirzade A.A., Tenditnik M.V., Amstislavskaya T.G. ....	89

ОЦЕНКА ГЕТЕРОГЕННОСТИ ТРАНСКРИПТОМОВ ПЕЧЕНОЧНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ <b>Арзумян В.А.</b> , Поверенная Е.В.....	90
ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫЙ ПОДХОД ПРИ МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОМ КОНСУЛЬТИРОВАНИИ ПАЦИЕНТОВ С МУКОВИСЦИДОЗОМ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН <b>Аюпова Г.Р.</b> , Миннихметов И.Р., Хусаинова Р.И. ....	91
РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ ДЛЯ ПРЕИМПЛАНТАЦИОННОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ ХРОМОСОМНЫХ АНЕУПЛОИДИЙ (ПГТ-А) МЕТОДОМ МАССОВОГО ПАРАЛЛЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ Игнатов К.Б., Анисименко М.С., Гаранин А.Ю., <b>Борисова М.А.</b> , Штокало Д.Н., Помазной М.Ю., Коваленко С.П. ....	92
ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛНОЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДЛЯ ПОИСКА НОВЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ, СВЯЗАННЫХ С ВАРИАБЕЛЬНОСТЬЮ КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ ЧЕЛОВЕКА Бочарова А.В., Вагайцева К.В., Марусин А.В., Макеева О.А., Степанов В.А. ....	93
СЕКВЕНИРОВАНИЕ МАЛЫХ РНК ДЛЯ ОЦЕНКИ ВЛИЯНИЯ ТИПА АНТИКОАГУЛЯНТА В ПРОБИРКАХ ДЛЯ ЗАБОРА КРОВИ НА ПРОФИЛИ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ МИКРОРНК ПЛАЗМЫ Желанкин А.В., Юльметова Л.Н. ....	94
ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МАЛЫХ ЯДРЫШКОВЫХ РНК В КЛЕТКАХ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЛЕГКИХ ЧЕЛОВЕКА A549 В УСЛОВИЯХ ЗАРАЖЕНИЯ ВИРУСОМ ГРИППА А <b>Журавлев Е.С.</b> , Сергеева М.В., Комиссаров А.Б., Степанов Г.А. ....	95
BRCA 1/2-АССОЦИИРОВАННЫЙ РАК ЯИЧНИКОВ В ПРИМОРСКОМ КРАЕ Журман В.Н., Плехова Н.Г., Филипенко М.Л. ....	96
ПРИМЕНЕНИЕ ТЕХНОЛОГИИ СЕКВЕНИРОВАНИЯ СЛЕДУЮЩЕГО ПОКОЛЕНИЯ ДЛЯ ПОИСКА ПАТОГЕННЫХ МУТАЦИЙ У ПАЦИЕНТОВ С НЕЗАВЕРШЕННЫМ ОСТЕОГЕНЕЗОМ <b>Зарипова А.Р.</b> , Хусаинова Р.И. ....	97
ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В КЛЕТКАХ НЕК293А ДИКОГО ТИПА И НОКАУТНЫХ ПО БЕЛКАМ TDP1 И RPR1 ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ <b>Захаренко А.Л.</b> , Дырхеева Н.С., Малахова А.А., Медведев С.П., Лузина О.А., Тупикин А.Е., Кабилов М.Р., Окорокова Л.С., Закиян С.М., Салахутдинов Н.Ф., Лаврик О.И. ....	98

ПОИСК НОВЫХ АУТОАНТИГЕНОВ, СВЯЗЫВАЮЩИХСЯ С ГЛАВНЫМ КОМПЛЕКСОМ ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ ВТОРОГО КЛАССА ЧЕЛОВЕКА ПРИ АУТОИММУННЫХ ПАТОЛОГИЯХ <b>Ишина И.А.</b> , Захарова М.Ю., Нерсисян С.А., Жиянов А.П., Давыдов А.Н., Курбацкая И.Н., Мамедов А.Э., Мамедов И.З., Тоневицкий А.Г., Габибов А.Г. ....	99
РАЗЛИЧИЯ В ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТКАХ КРОВИ ПРИ РАДИОЛОГИЧЕСКИ ИЗОЛИРОВАННОМ СИНДРОМЕ И РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ ПО ДАННЫМ ТРАНСКРИПТОМНОГО ПРОФИЛИРОВАНИЯ <b>Козин М.С.</b> , Баулина Н.М., Киселев И.С., Кабаева А.Р., Бойко А.Н., Фаворова О.О., Кулакова О.Г. ....	100
ОСОБЕННОСТИ МУТАЦИОННОГО ЛАНДШАФТА РАКА ПОЛОСТИ РТА У МОЛОДЫХ ПАЦИЕНТОВ <b>Колегова Е.С.</b> , Щеголева А.А., Воробьев Р.С., Федорова И.К., Кульбакин Д.Е., Чойнзонов Е.Л., Денисов Е.В. ....	101
ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ KLF2 И KLF4 В КОЛОНИЕФОРМИРУЮЩИХ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ И ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ КОРОНАРНОЙ АРТЕРИИ ЧЕЛОВЕКА <b>Кутихин А.Г.</b> , Великанова Е.А., Матвеева В.Г., Тупикин А.Е., Кабилов М.Р. ....	102
АУТОИММУННАЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИЯ ВЫЗЫВАЕТ СМЕЩЕНИЕ РЕПЕРТУАРА В-КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ <b>Ломакин Я.А.</b> , Кабилов М.Р., Овчинникова Л.А., Захарова М.Н., Звягин И., Тупикин А.Е., Белогуров А.А., Габибов А.Г. ....	103
ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: ИДЕНТИФИКАЦИЯ ОПУХОЛЕВЫХ И ГИБРИДНЫХ КЛЕТОК <b>Меняйло М.Е.</b> , Зайнуллина В.Р., Таширева Л.А., Геращенко Т.С., Алифанов В.В., Савельева О.Е., Григорьева Е.С., Чердынцева Н.В., Перельмутер В.М., Денисов Е.В. ....	104
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИСЕКЦИЯ СПЕРМАТОГЕНЕЗА В МУЛЬТИЭТНИЧЕСКИХ РОССИЙСКИХ ПОПУЛЯЦИЯХ НА ОСНОВЕ ПОЛНО-ЭКЗОМНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ <b>Осадчук А.В.</b> , Васильев Г.В., Иванов М.К., Клещев М.А., Осадчук Л.В. ....	105
ТРАНСКРИПТОМНЫЙ ПРОФИЛЬ МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА В ДИНАМИКЕ ПРОВЕДЕНИЯ ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ ХИМИОТЕРАПИИ <b>Патышева М.Р.</b> , Ларионова И.В., Ямшиков П.С., Григорьева Е.С., Стахеева М.Н., Тарабановская Н.А., Чердынцева Н.В., Кжышковска Ю.Г. ....	106

АНАЛИЗ ГЕРМИНАЛЬНЫХ МУТАЦИЙ У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНО-МНОЖЕСТВЕННЫМИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ В КОМБИНАЦИИ РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И/ИЛИ ЯИЧНИКОВ <b>Савкова А.В.</b> , Гуляева Л.Ф., Кудрявцева А.В., Пудова Е.А., Герасимов А.В., Красильников С.Э. ....	107
АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА rs74797959 ГЕНА <i>ADAMTS14</i> В ЯКУТСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ Сивцева Т.М., Шатунов А.Ю., Кабилов М.Р., Батурина О.А., Гольдфарб Л.Г., Ренвик Н., Охотина М.М., Осаковский В.Л. ....	108
ИЗМЕНЕНИЯ ТРАНСКРИПТОМОВ КОРЫ МОЗГА И ГИППОКАМПА КРЫС OXYS В РАННИЙ ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД КАК ПРЕДПОСЫЛКА РАЗВИТИЯ ПРИЗНАКОВ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА <b>Стефанова Н.А.</b> , Колосова Н.Г. ....	109
ПАТТЕРНЫ АЛЬТЕРНАТИВНОГО СПЛАЙСИНГА В ДЕЦИДУАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ПЛАЦЕНТЫ ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ <b>Трифорова Е.А.</b> , Гавриленко М.М., Бабовская А.А., Зарубин А.А., Сваровская М.Г., Степанов В.А. ....	110
МУТАЦИОННЫЙ ПРОФИЛЬ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО С ВЫСОКИМ РИСКОМ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ И РЕЦИДИВИРОВАНИЯ <b>Хозяинова А.А.</b> , Щеголева А.А., Геращенко Т.С., Воробьев Р.С., Родионов Е.О., Панкова О.В., Перельмутер В.М., Денисов Е.В. ....	111
МУТАЦИИ ГЕНА <i>PALB2</i> В ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: СВЯЗЬ С ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ И ПРОГНОЗОМ ЗАБОЛЕВАНИЯ <b>Цыганов М.М.</b> , Ибрагимова М.К., Хозяинова А.А., Литвяков Н.В. ....	112
TRANSCRIPTOME PROFILING AND GENOME-WIDE DNA METHYLATION ANALYSIS IN HYPERTROPHIC CARDIOMYOPATHY <b>Kiselev I.S.</b> , Kozin M.S., Baulina N.B., Pisklova M.V., Baturina O.A., Kabilov M.R., Zotov A.S., Chumakova O.S., Zateyshchikov D.A., Favorova O.O. ....	113
<b>Авторский указатель</b> .....	114
<b>Спонсоры</b> .....	118

## НА ПУТИ К СОЗДАНИЮ ПАНГЕНОМА ЛЬНА

Дворянинова Е.М.<sup>1,2\*</sup>, Большева Н.Л.<sup>1</sup>, Борхерт Е.В.<sup>1</sup>, Новаковский Р.О.<sup>1</sup>, Пушкина Е.Н.<sup>1</sup>, Сигова Е.А.<sup>1,2</sup>, Рожмина Т.А.<sup>3</sup>, Мельникова Н.В.<sup>1</sup>, Дмитриев А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

<sup>2</sup>Московский физико-технический институт, Москва

<sup>3</sup>Федеральный научный центр лубяных культур, Торжок

\*e-mail: dvorianinova.em@phystech.edu

Пангеном максимально охватывает генетическое разнообразие вида и является мощным ресурсом для изучения генетики ценных признаков сельскохозяйственных растений. Цель данной работы – создание пангенома льна, который выращивается для получения пищевого и технического масла и волокна, при этом Россия является одним из мировых лидеров по производству льнопродукции. Нами проведен анализ мирового разнообразия *Linum usitatissimum* на основе полиморфизмов более 500 генов, найденных в полногеномных последовательностях более 400 сортов/линий льна (NCBI BioProject: PRJNA707038). Также сделана опора на литературные данные молекулярно-генетических исследований [1, 2]. В результате выбрано 40 образцов льна – долгунца, межеумка и масличного (регионы возделывания – Северная и Южная Америка, Европа, Северная Африка и Южная Азия), а также озимого, прыгунца и дикорастущего (*Linum angustifolium*). Сформированная выборка максимально охватывает географическое и генетическое разнообразие льна. Для отбора типичных представителей сорта/линии или формы проводили оценку фенотипа и генотипирование индивидуальных растений. Для получения достаточного количества длинных чтений геномов льна на платформе Oxford Nanopore Technologies (ONT) разработан протокол выделения чистой высокомолекулярной ДНК, включающий выделение ядер из листьев льна, выдерживаемых в темноте, и экстракцию ДНК с помощью набора Nanobind Plant Nuclei Big DNA Kit (Circulomics). С использованием разработанного протокола выделена ДНК линии *L. usitatissimum* № 3896. На платформе ONT (MinION, R9.4.1, 2 запуска) получено 31 млрд. н. с N50 ~ 15 тыс. н. На основе полученных данных провели сравнительный анализ результатов работы различных приложений сборщиков и полировщиков и предложили оптимальный алгоритм сборки и полировки генома льна. Полученные результаты формируют основу для создания пангенома льна.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, грант № 075-15-2021-1064 от 28.09.2021 г.

1. J.B.Soto-Cerda et al. (2013) Genetic characterization of a core collection of flax (*Linum usitatissimum* L.) suitable for association mapping studies and evidence of divergent selection between fiber and linseed types, *BMC plant biology*, **13**: 78.

2. H.Uysal et al. (2010) Genetic diversity of cultivated flax (*Linum usitatissimum* L.) and its wild progenitor pale flax (*Linum bienne* Mill.) as revealed by ISSR markers, *Genetic resources and crop evolution*, **57**: 1109-1119.

## ОПЫТ СБОРКИ ГЕНОМОВ ПОЛИПЛОИДНЫХ ОРГАНИЗМОВ НА ПРИМЕРЕ ТЕТРАПЛОИДА *CAPSELLA BURSA-PASTORIS*

Касьянов А.С.<sup>1</sup>, Макаренко М.С.<sup>1</sup>, Пенин А.А.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> *Институт проблем передачи информации РАН, Москва*

\**e-mail: alekseypenin@gmail.com*

Текущий прогресс в области секвенирования позволил разработать стандартный подход к сборке эукариотических геномов. Он включает в себя две основные стадии: (1) сборку контигов из HiFi ридов полученных на платформе PacBio, (2) последующий скаффолдинг полученных контигов с помощью данных HiC. Большая часть последовательностей эукариотических геномов в последние три года была получена именно с использованием такого подхода. Однако, геномы растений часто более сложны для сборки, чем геномы других организмов. Как правило причиной этого является характерная для них полиплоидия. В этом случае стандартный подход может породить сборки несущие существенные ошибки, прежде всего, химеры между паралогичными участками субгеномов. В нашей работе на примере сборки генома аллотетраплоида *Capsella bursa-pastoris*, возникшего около 300 тысяч лет назад, мы демонстрируем, как привлечение данных генетической карты с высоким разрешением (примерно 1 маркер на 1 т.н.п.) позволяет провести коррекцию ошибок сборки полученной с помощью стандартного подхода и получить корректную сборку генома до уровня хромосом.

Работа поддержана грантом РФФ 21-74-20145.



## МЕТОДЫ ИДЕНТИФИКАЦИИ КЛЮЧЕВЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНОВ *FAD3A* И *FAD3B*, ОТВЕТСТВЕННЫХ ЗА СОДЕРЖАНИЕ ЛИНОЛЕВОЙ И ЛИНОЛЕНОВОЙ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В ЛЬНЯНОМ МАСЛЕ

Повхова Л.В.<sup>1\*</sup>, Рожмина Т.А.<sup>1,2</sup>, Фрыкин Р.И.<sup>1,3</sup>, Дмитриев А.А.<sup>1</sup>, Мельникова Н.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва

<sup>2</sup>Федеральный научный центр лубяных культур, Торжок

<sup>3</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

\*e-mail: povhova.lv@phystech.edu

Сорта льна (*Linum usitatissimum* L.) существенно различаются по составу масла (преимущественно по содержанию линоленовой и линолевой жирных кислот), и эта характеристика определяет применение семян – для лакокрасочной, пищевой или фармацевтической промышленности. Известно, что стеароил-АСР-десатуразы (SAD) и десатуразы жирных кислот 2 и 3 (FAD2 и FAD3) играют основную роль в синтезе жирных кислот, а несколько ключевых полиморфизмов генов *FAD3A* и *FAD3B* ответственны за содержание линоленовой и линолевой жирных кислот. Идентификация этих полиморфизмов ценна для селекции сортов льна с заданным жирнокислотным составом и поддержания сортовой чистоты. Мы предлагаем три подхода для установления ключевых полиморфизмов генов *FAD3A* и *FAD3B*. Первый подход заключается в таргетном секвенировании фрагментов генов *FAD3*, содержащих ключевые полиморфизмы. Второй подход основан на CAPS-маркерах (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences). Третий – анализ кривых плавления высокого разрешения (HRM, High Resolution Melting). Преимуществом высокопроизводительного секвенирования является высокая точность и возможность оценки гетерогенности пула растений одного сорта/линии. HRM-анализ проще, менее время- и ресурсозатратен и наиболее пригоден для идентификации ключевых полиморфизмов генов *FAD3A* и *FAD3B* для большого числа образцов. Применение CAPS-маркеров является менее производительным и более трудозатратным по сравнению с HRM-анализом, однако может применяться для оценки индивидуальных растений в лабораториях, где отсутствуют амплификаторы для анализа в режиме реального времени. С использованием глубокого секвенирования, HRM- и CAPS-анализа нами проведены работы по созданию сортов льна пищевого назначения и выбраны гомозиготные растения с аллельными вариантами, детерминирующими среднее и низкое содержание линоленовой кислоты. Также эти подходы использованы для отбора растений для транскриптомного и масс-спектрометрического анализа с целью изучения вклада генотипа и среды в состав льняного масла у сортов с различным содержанием жирных кислот.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант 21-16-00111.

## RECONSTRUCTION AND ANALYSIS OF PANGENOME OF SIBERIAN CULTIVARS OF POTATO SOLANUM TUBEROSUM

Karetnikov D.I.<sup>1,2,3</sup>, Genaev M.A.<sup>1,2</sup>, Nesterov M.A.<sup>1,2</sup>, Shmakov N.A.<sup>1,2</sup>, Ibragimova S.M.<sup>1,2</sup>, Vasiliev G.V.<sup>1,2</sup>, Toschakov S.V.<sup>4</sup>, Gavrilenko T.A.<sup>5</sup>, **Afonnikov D.A.<sup>1,2\*</sup>**, Salina E.A.<sup>1,2</sup>, Patrushev M.V.<sup>4</sup>, Kochetov A.V.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia*

<sup>2</sup>*Kurchatov genomic center of the Institute of Cytology and Genetics SB RAS*

<sup>3</sup>*Novosibirsk State University*

<sup>4</sup>*Kurchatov Institute*

<sup>5</sup>*N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources*

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

Genome sequence of the crop opens the way for studying the structure of its chromosomes, distribution of repetitive and coding sequences, identification and annotation of genes. It makes possible to study gene functions and develop markers to find associations with phenotypic traits. However, there may be significant structural variations in the genomes of different organisms of the same species that cannot be represented based on the reference sequence alone and need to be described within the concept of pangenome, the complete set of genes of organisms of the same species. Sets of both common and variable genes can be distinguished in the pangenome. The variable part is particularly important for the study because it is formed by genes associated with plant adaptation to environmental conditions, resistance to diseases and abiotic and biotic stresses.

*Solanum tuberosum* L. (potato) is the most important crop produced almost all over the world. Total production is over 370 million tons per year and the number of varieties is over 4000. A feature of potato genetics is the autoteraploid genome and high heterozygosity due to the predominantly vegetative method of propagation. In this paper, a study of pangenome of potato varieties of Siberian breeding was performed.

DNA from plants of 7 varieties was sequenced by paired-end short reads using the Illumina platform, allowing to obtain DNA assembly at the exome level. This assembly was further improved by using the DM1-3516 R44 reference genome. Structural variation was assessed for genotypes and were compared between Siberian cultivars and additionally four American varieties sequenced earlier [1].

Based on the obtained assemblies, protein-coding genes were identified and the pangenome was analyzed. We determined its variable and conservative parts. It was shown that the pangenome structure of Siberian varieties is open, i.e., the pangenome size grows indefinitely as the number of individual genomes increases.

The results obtained provide an opportunity to further study the features of the structure and functions of protein-coding genes for potato varieties of Siberian cultivars.

The work was funded by the Kurchatov Genome Center of the ICG of SB RAS, agreement with the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, no. 075-15-2019-1662.

1. Kyriakidou, M., Anglin, N. L., Ellis, D., Tai, H. H., & Strömvik, M. V. (2020). Genome assembly of six polyploid potato genomes. *Scientific data*, 7 : 1-6.

A CASE OF HYBRID MITOCHONDRIAL GENOME IN WILD PEAS (*PISUM SATIVUM* L SUBSP. *ELATIUS* (BIEB.) SCHMALH.)

Богданова В.С., Шацкая Н.В., Костерин О.Э.\*, Васильев Г.В.

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

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

High throughput sequencing using the Illumina platform was applied to reconstruct genomes of cellular organelles in peas (*Pisum sativum* L). Mitochondria and plastids are cellular organelles with their own not too large genome. Plant mitochondria are prone to recombination mainly within the mitochondrial DNA (mtDNA) molecule [1]. Theoretically recombination with foreign mtDNA is also possible, provided that foreign mtDNA is present in heteroplasmic state. However, mitochondria are maternally inherited with extremely rare exceptions thus making probability of recombination events low. In extensive experiments of crossing wild and cultivated subspecies of pea (*Pisum sativum*) we observed rare cases of biparental inheritance of mitochondria. This implies potential possibility for diverged mitochondria to occur in the same cytoplasm, that is an essential pre-requisite of detectable recombination between mitochondrial genomes. High-throughput sequencing of mitochondrial genomes in accessions of the wild pea subspecies (*P. sativum* subsp. *elatius*) using the Illumina platform revealed four their principal phylogenetic branches M1-M4 with the M1 branch corresponding to an ancient evolutionary split and being highly divergent [2]. Among the accessions studied, accession W6 2107 from Siirt Province of Turkey was shown to have a hybrid mitochondrial genome belonging to M2 branch but including an extended stretch of about 12 kb of mtDNA otherwise met exclusively in the M1 branch. This is the clear case of recombination between mitochondrial genomes in plants.

1. J.M.Gualberto et al. (2021) The plant mitochondrial genome: dynamics and maintenance, *Biochimie*, **100**: 107-120.

2. V.S.Bogdanova et al. (2021) Discordant evolution of organellar genomes in peas (*Pisum* L.), *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **160**: 107136.

## ANNOTATION OF SIBERIAN LARCH REFERENCE GENOME, THE ONLY SEASONAL SENESCENCE GENUS IN PINACEAE

**Bondar E.I.**<sup>1,2\*</sup>, Feranchuk S.I.<sup>3</sup>, Miroshnikova K.A.<sup>1,2</sup>, Sharov V.V.<sup>1,2</sup>, Kuzmin D.A.<sup>1</sup>, Oreshkova N.V.<sup>1,2,4</sup>, Krutovsky K.V.<sup>1,5,6,7</sup>

<sup>1</sup> Siberian Federal University, Krasnoyarsk

<sup>2</sup> Federal Research Center "Krasnoyarsk Science Center", SB RAS, Krasnoyarsk

<sup>3</sup> Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, 664003, Irkutsk, Russia

<sup>4</sup> V. N. Sukachev Institute of Forest, SB RAS, Krasnoyarsk

<sup>5</sup> Georg-August University of Göttingen, Göttingen, Germany

<sup>6</sup> N.I. Vavilov Institute of General Genetics, RAS, Moscow

<sup>7</sup> G. F. Morozov Voronezh State University of Forestry and Technologies, Voronezh

\*e-mail: ebondar@sfu-kras.ru

Siberian larch (*Larix sibirica* Ledeb.) is a conifer tree native to the coldest regions of the northern hemisphere with a valuable rot resistant timber. The recent release of its whole nuclear [1], chloroplast [2] and mitochondrial [3] genome assemblies greatly contributed to the development of genomic resource for the larch genus. Here, we report a comprehensive repeatome analysis, and provide the first annotation for the draft Siberian larch genome assembly.

RepeatMasker with *de novo* repeat library generated by RepeatModeler and combined repeat library were used to assess the relative abundance of Class I and II repeats. Estimation of LTR-RT insertion time was done using LTRharvest and LTR\_retriever. The MAKER2 pipeline was used for automated gene annotation. The transcriptome assemblies from five tissue types assembled with TrinityRnaSeq package were used as species-specific RNA-seq evidence. Gene prediction was performed using AUGUSTUS, which was iteratively trained on a verified set of annotated transcripts, preliminarily assembled with TopHat and Cufflinks. Functional annotation was performed using Blast2GO within the OmixBox Platform.

Mobile DNA covers about 66% of larch genome, and the wave of retrotransposon insertions into the larch genome was estimated to occur around 4-5 MYA. Among 39,370 predicted gene models 87 % had homology to *Arabidopsis* annotated proteins, and 78% had at least one GO term assignment. The current state of the genome annotations allows comparative genomic analysis of gymnosperm and angiosperm species based on gene abundance in different functional categories. Although far from complete, draft assemblies and annotations of conifer genomes represent a valuable source for further functional, population and evolutionary genetic and genomic studies.

1. D.A.Kuzmin et al. (2019) Stepwise large genome assembly approach: A case of Siberian larch (*Larix sibirica* Ledeb.), *BMC Bioinformatics* **20(Suppl. 1)**: 37.

2. E.I.Bondar et al. (2019) Siberian larch (*Larix sibirica* Ledeb.) chloroplast genome and development of polymorphic chloroplast markers, *BMC Bioinformatics*, **20(1)**: 47-52.

3. Y.A.Putintseva et al. (2020) Siberian larch (*Larix sibirica* Ledeb.) mitochondrial genome assembled using both short and long nucleotide sequence reads is currently the largest known mitogenome, *BMC Genomics*, **21(1)**: 1-12.

GENOME AND TRANSCRIPTOME OF AN INVASIVE PLANT SPECIES  
*HERACLEUM SOSNOWSKYI*.

**Logacheva M.D.**<sup>1\*</sup>, Schelkunov M.I.<sup>1,2</sup>, Shtratnikova V. Yu.<sup>3</sup>, Hardy G.<sup>1</sup>, Makarenko M.S.<sup>2</sup>, Penin A.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*Institute of Information Transmission Problems RAS, Moscow, Russia*

<sup>3</sup>*Lomonosov Moscow State University*

\**e-mail: maria.log@gmail.com*

*Heracleum sosnowskyi* (giant hogweed) is a highly aggressive invasive plant that greatly increased its area in Russia and in other European countries in the last years. Besides its adverse role in ecosystems, it is notorious by provoking severe skin irritation and burns due to the presence of photosensibilizing compounds. Besides that, it belongs to a large and underexplored group of plants – family Apiaceae; it includes many economically important plants but the high-quality genome-wide data are very scarce. With this motivation, we have assembled giant hogweed genome using a combination of high-accuracy long reads from SMRT sequencing platform and HiC data. Resulting assembly consists of chromosome-scale scaffolds (N50 = 127 Mb) and carries 99.3% of conserved universal genes (BUSCO).

We identified candidate genes for the biosynthesis of psoralen and related compounds – the photosensibilizing agents that confer to *H. sosnowskyi* its harmful properties.

We also characterized transcriptomes from four above-ground organs – leaves, flowers, fruits and inflorescences and surveyed the expression levels for the candidate genes of psoralen biosynthesis pathway. In combination with phylogenetic analysis, this allowed to prioritize candidates; for two of them – ones that are the most plausible based on this combined evidence - we performed cloning and heterologic expression in yeasts. This showed the psoralen-synthase activity for one of the genes.

The study is supported by the Russian Science Foundation, project # 21-74-20145.

## ДИСКРЕТНОСТЬ МОДУЛЯЦИИ АМПЛИТУДЫ СИГНАЛА ПРОТЕАСОМНОЙ ДЕГРАДАЦИИ

**Белогуров А.А. \***, Кудряева А.А.

*Государственный научный центр Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва*

*\*e-mail: belogurov@ibch.ru*

Убиквитин-протеасомная система насчитывает более 1000 индивидуальных представителей и практически в неизменном виде присутствует во всех клетках эукариот. Функционирование этой системы обеспечивает уникальную возможность направленной деградации тысяч белков с минимальной временной инерциальностью. В этом смысле полиубиквитинирование – классический варинат биокомпьютинга, в котором протеасома считывает логические операторы (YES, NO, OR) на основании длины и типа соединения полиубиквитиновой цепи. Несмотря на продолжительную и насыщенную историю изучения убиквитин-протеасомной системы до сих пор нет чёткого понимания механизмов, которые лежат в основе ассоциации субстратов с протеасомой. Ряд ключевых вопросов, таких как длина и состав полиубиквитиновой цепи, круговорот и деградация самого убиквитина, а также структурные детерминанты, позволяющие субстратам напрямую взаимодействовать с протеасомой, до сих пор остаются нерешёнными. В настоящем исследовании с использованием прижизненного флуоресцентного трекинга и комбинаторного скрининга химерных протеасомных субстратов с привлечением высокопроизводительного секвенирования мы продемонстрировали, что убиквитин является фантастическим по универсальности и рациональности использования элементом внутриклеточного сигналинга. При достаточно коротком времени полужизни в 4 часа убиквитин в среднем успевает около 16 раз использоваться для сборки различных цепей, вместе с этим, при средневзвешенной длине цепи в 6 остатков, потери убиквитина составляют лишь одну молекулу на четыре акта захвата субстратов протеасомой [1]. Интересно, что длина полиубиквитиновой цепи не имеет явной связи с размером субстрата и составляет те же 6 остатков вне зависимости от массы транспортируемой мишени.

Работа была поддержана грантом РФФ 21-74-10154 и Грантом Президента Российской Федерации МД-5902.2021.1.4

1. A.A. Kudriaeva et al. (2021) In-depth characterization of ubiquitin turnover in mammalian cells by fluorescence tracking, *Cell Chem Biol*, **28**:8 1192-1205

## БЕЛОК-КОДИРУЮЩИЙ ПОТЕНЦИАЛ ПОВТОРЯЮЩИХСЯ ЭЛЕМЕНТОВ ГЕНОМА ЧЕЛОВЕКА

Егоров А.А.<sup>1,2</sup>, Буян А.И.<sup>1,3</sup>, Сорокин И.И.<sup>1</sup>, Нагимов Р.Д.<sup>1,3</sup>, Гладышев В.Н.<sup>4</sup>,  
Кулаковский И.В.<sup>5</sup>, **Дмитриев С.Е.**<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>НИИ физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского МГУ, Москва

<sup>2</sup>Физтех-школа биологической и медицинской физики, МФТИ, Долгопрудный

<sup>3</sup>Факультет биоинженерии и биоинформатики МГУ, Москва

<sup>4</sup>Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Бостон, США

<sup>5</sup>Институт белка РАН, Пуццо

\*e-mail: sergey.dmitriev@belozersky.msu.ru

В человеческом геноме представлены многочисленные копии повторяющихся генетических элементов (ПГЭ), часть из которых способны к перемещению. Мобилизация ПГЭ приводит к появлению в геноме их новых копий, которые могут стать причиной наследственных заболеваний и изменений в физиологии соматических клеток, включая раковую трансформацию и клеточное старение. Считается, что большинство мобильных ПГЭ неактивны, но некоторые из них содержат протяжённые рамки считывания, которые потенциально могут кодировать функциональные белки. Несмотря на усиливающееся внимание к активности ПГЭ, до сих пор не было предпринято попыток провести систематический анализ их белок-кодирующего потенциала. Анализ данных высокопроизводительного секвенирования и масс-спектрометрии в приложении к ПГЭ и кодируемым ими белкам осложняется большим количеством копий и сложной иерархией многочисленных подсемейств ПГЭ, а также вырожденностью их последовательностей. Мы разработали подход, позволяющий идентифицировать транскрибируемые открытые рамки считывания (ORF) в консенсусных последовательностях ПГЭ на основании данных рибосомного профайлинга и высокопроизводительной масс-спектрометрии клеток и тканей человека. Это позволило выявить более 800 ORF с белок-кодирующим потенциалом в 37 подсемействах ПГЭ человека, в том числе в элементах, которые ранее считались неактивными или не кодирующими, таких как ДНК-транспозоны семейств TIGGER и CHARLIE и неавтономные мобильные элементы SVA.

Работа поддержана грантом РФФ 18-14-00291.



## СЕЛЕКЦИЯ НОВОГО АПТАМЕРА К SARS-CoV-2 С ПОМОЩЬЮ НАНОПОРНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Грабовенко Ф.И.<sup>1\*</sup>, Никиифорова Л.А.<sup>2</sup>, Хренова М.Г.<sup>1</sup>, Спиридонова В.А.<sup>1</sup>,  
**Зверева М.Э.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Химический факультет, МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва

<sup>2</sup>НИИ Физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского МГУ им. М.В.Ломоносова,  
Москва

\*e-mail: grabovenko.f@rambler.ru

На основе селекции аптамеров, специфичных к рекомбинантному белку RBD S-белка вируса SARS-CoV-2, была апробирована и подтверждена эффективная система для идентификации последовательностей на основе нанопорного секвенирования. Целью проведенного отбора было получение более стабильных аптамеров к SARS-CoV-2 по сравнению с описанными ранее [1]. Мы предположили, что при пре-структуризации рандомизированного участка, пул последовательностей будет с большей вероятностью образовывать стабильную структурную платформу с различными петлями, обеспечивающими селективность взаимодействия. Параллельно были проведены два независимых эксперимента SELEX: для отбора аптамеров из исходной ДНК-библиотеки, а также для отбора аптамеров с последовательностями, комплементарными исходной ДНК-библиотеке (отсутствует пре-формирование структуры) как контроль. После второго цикла SELEX и далее в эксперимент добавили дополнительный шаг, заключающийся в связывании преформированной ДНК-библиотеки со смолой Ni-NTA без белка для исключения из общего пула последовательностей фракции последовательностей, взаимодействующих с Ni-NTA. Для увеличения «давления» отбора в ходе SELEX количество RBD постепенно уменьшали на каждом цикле. После 12 раундов селекции отобранные последовательности были лигированы в цепи (средняя длина 500 - 1000 н.о.), последовательности которых были определены напрямую секвенированием третьего поколения. Был разработан алгоритм для анализа полученных данных, на основе которого удалось определить уникальную последовательность аптамера. Химически синтезированный аптамер был очищен, и для него была оценена сила взаимодействия с белком двумя различными методами ( $K_d \sim 10$  нМ), что подтвердило успешную селекцию и возможность использования нанопорного секвенирования нового поколения для идентификации последовательности аптамеров при искусственном отборе.

Работа поддержана грантом РФФИ: 20-04-60477

1. Song, Y.; Song, J.; Wei, X.; Huang, M.; Sun, M.; Zhu, L.; Lin, B.; Shen, H.; Zhu, Z.; Yang, C. Discovery of aptamers targeting the receptor-binding domain of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Anal. Chem.* 2020, 92, 9895–9900



## АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ ФАГОВОГО ДИСПЛЕЯ НА ПЛАТФОРМЕ ION

**Колосова Е.А.<sup>1,2</sup>, Бондарь А.А.<sup>3</sup>, Шаповал А.И.<sup>2</sup>, Щербаков Д.Н.<sup>1,2</sup>, Морозов И.В.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет», г. Барнаул,

<sup>3</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

\*e-mail: kurchanovaea@gmail.com

Метод фагового дисплея используется для выявления высоко аффинных пептидов или антител. В последнее время предпринимаются попытки решить проблему производительности и разрешающей способности за счет использования для анализа геномов бактериофагов методов массового параллельного секвенирования (МПС) на платформе Illumina.

В данной работе нами продемонстрирована возможность успешного использования для анализа результатов фагового дисплея МПС на платформе Ion (Ion Proton, Thermo Fisher Scientific, США), использованной для детальной характеристики фаготопов, отобранных из фаговой пептидной библиотеки GerLab, после одного раунда селекции против моноклональных антител (МКА) 2F5 с известным паратопом (NIH AIDS Reagent Program, США).

В работе использовали фаговую пептидную библиотеку, состоящую из смеси 8 библиотек, экспонирующих в составе главного поверхностного белка рVIII случайные пептиды длиной 6, 8, 10, 12 аминокислот, а также их циклические варианты с6с, с8с, с10с, с12с. Аффинную селекцию с МКА проводили по стандартному протоколу производителя (NEB, руководство библиотеки). Аффинную селекцию с МКА проводили в трех повторах. Участок оДНК бактериофагов элюата первого раунда селекции, кодирующий область встройки вариативной аминокислотной последовательности, амплифицировали посредством ПЦР с праймерами, обеспечивающими одновременное введение в продукт ПЦР адаптерных и индексных последовательностей для использования таких продуктов в качестве готовых библиотек для МПС на платформе Ion Proton. После нескольких этапов фильтрации полученных в результате МПС нуклеотидных последовательностей они транслировались в аминокислотные последовательности и ранжировались по частоте встречаемости.

Известно, что паратопом для МКА 2F5 является последовательность ELDKWA. После одного раунда селекции против МКА 2F5 наиболее представленные 14 вариантов пептидов (составлявшие более 2% всех последовательностей) содержали или непосредственно аминокислотную последовательность, или вариант мимотопов паратопа этого антитела, что подтверждает возможность выявления последовательностей, образующих мотив паратопа МКА 2F5, в результате одного раунда аффинной селекции.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-44-220008\19 и государственного задания Минобрнауки России № FZMW-2020-0007.

## СИКВЕНС-СПЕЦИФИЧНОСТЬ БЕЗМАТРИЧНОГО СИНТЕЗА НУКЛЕОТИДТРАНСФЕРАЗЫ ЧЕЛОВЕКА

Кузнецова А.А.\*, Тупикин А.Е., Кабилов М.Р., Кузнецов Н.А.

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск*

*\*e-mail: sandra-k@niboch.nsc.ru*

В настоящее время известны многие детали функционирования ДНК-полимераз, связанные с особенностями образования каталитического комплекса, специфическим узнаванием праймера и dNTP и каталитическими стадиями присоединения нуклеотида к «растущей» цепи.

Изучение механизма действия данных ферментов связано не только с целью улучшения понимания процессов рекомбинации и репарации ДНК, но и с целью практического применения нуклеотидил-трансфераз для направленного эффективного *in vitro* синтеза протяженных олигонуклеотидов, которые не могут быть синтезированы классическим химическим способом с использованием фосфитаминов. Действительно, ферментативный синтез рассматривают как более быстрый и эффективный способ синтеза более длинных последовательностей ДНК, чем это возможно с помощью традиционных химических средств, что имеет большое значение для создания библиотек олигонуклеотидов, синтеза генов и других целей синтетической биологии.

Объектом исследования в настоящей работе является терминальная дезоксирибонуклеотидтрансфераза человека TdT, которая катализирует «независимое» от матрицы присоединение «случайных» нуклеотидов к свободному 3'-ОН концу ДНК-праймера в процессах V(D)J-рекомбинации и репарации двухцепочечных разрывов ДНК путем негомологичного соединения концов (NHEJ).

В рамках данной работы проведен детальный анализ особенностей образования фермент-субстратного комплекса и эффективности присоединения природных нуклеотидов к ДНК-праймерам различного нуклеотидного состава. В качестве праймеров использовали смесь 2'-дезоксирибоолигонуклеотидов, содержащих на 3'-конце 6-звенную рандомизированную последовательность. С использованием подходов стационарной и быстрой ферментативной кинетики оптимизированы условия проведения реакции для достижения близкого к количественному выходу удлиненного продукта на каждом цикле присоединения. Методом высокопроизводительного секвенирования продуктов реакции, полученных в ходе ферментативного удлинения рандомизированных ДНК-праймеров, определена селективность фермента по отношению к входящему нуклеотиду в зависимости от состава 3'-концевой части ДНК-праймера. Таким образом, совокупность полученных данных позволила установить особенности действия фермента TdT и установить оптимальный нуклеотидный состав 3'-концевой части ДНК-праймера, необходимый для более эффективного присоединения dNTP.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 21-64-00017.

## РЕДАКТИРОВАНИЕ ИНТРОНОВ С ПОМОЩЬЮ CRISPR/CAS9 И ПОСЛЕДУЮЩИЙ ТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ КАК ИНСТРУМЕНТ ДЛЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

**Матвеева А. М.\*<sup>1,2</sup>**, Журавлев Е. С.<sup>1</sup>, Семенов Д. В.<sup>1</sup>, Власов В. В.<sup>1,2</sup>, Степанов Г. А.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>*Институт химической биологии и фундаментальной медицины, Сибирское отделение Российской Академии наук, Новосибирск*  
<sup>2</sup>*Новосибирский государственный университет, Новосибирск*  
*\*anastasiya.maatveeva@gmail.com*

В большинстве работ по рутинному редактированию с помощью систем CRISPR/Cas для регуляции экспрессии и сопутствующих клеточных процессов в качестве мишеней выбирают белок-кодирующие гены, редактирование интронов при этом обращает на себя внимание как перспективный инструмент изучения механизмов пост-транскрипционного созревания РНК, а также связанных клеточных процессов.

В клетках человека с помощью системы CRISPR/Cas9 были отредактированы гены малых ядерных РНК (мяоРНК), расположенные в интронах гена *GAS5*. Точное редактирование генов мяоРНК приводило к подавлению РНК-мишени, а также возникновению новых форм сплайсинга днкРНК *GAS5*. Транскриптомный анализ и мета-анализ позволили предложить гипотезу мбА-зависимой регуляции созревания *GAS5*. Путем одновременного редактирования генов мяоРНК, расположенных в первом и последнем интронах, были получены клеточные линии с протяженной делецией в одном аллеле *GAS5*, приведшей к подавлению экспрессии как интрон-закодированных мяоРНК, так и самой днкРНК *GAS5*. Было выдвинуто предположение о хост-ген-независимом созревании мяоРНК и мяоРНК-зависимом созревании РНК хост-гена.

Перспективна и разработка подходов к регуляции сплайсинга без нарушения при этом структуры гена. На основе клеток 293FT были получены линии, несущие гены мяоРНК с активностью, направленной на пре-мРНК модельного гена. Секвенирование транскриптома выявило созревание новых форм мяоРНК с измененной областью узнавания и подавление экспрессии гена-мишени. В результате показана возможность направленной мяоРНК-опосредованной регуляции сплайсинга в клетках 293FT.

Полученные результаты демонстрируют, что редактирование интронов – интересный инструмент для изучения механизмов созревания РНК, обладающий также потенциалом в различных областях фундаментальных и прикладных исследований.

Исследование проведено при поддержке гранта РФФИ 18-29-07073 и проекта Госзадания ИХБФМ СО РАН (0245-2019-0001) (разработка методов).

## СЕЛЕКЦИЯ АПТАМЕРОВ К БЕЛКУ DKK-1 ИЗ ДНК-БИБЛИОТЕКИ С НЕРАВНОМЕРНОЙ СЛУЧАЙНОЙ ОБЛАСТЬЮ

**Шатунова Е.А.<sup>1\*</sup>**, Тимошенко В.В.<sup>1</sup>, Кабилов М.Р.<sup>1</sup>, Королев М.А.<sup>2</sup>, Воробьева М.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

<sup>2</sup>Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

\*e-mail: lizashatunova@yandex.ru

ДНК- и РНК-аптамеры, способные высокоаффинно и специфично узнавать заданные белки-мишени, представляют собой перспективную альтернативу моноклональным антителам для создания новых средств терапии и диагностических тест-систем. Целью данного исследования было получение новых ДНК-аптамеров к сывороточному белку Dkk-1 человека – потенциальному биомаркеру иммуновоспалительных ревматических заболеваний.

В подавляющем большинстве случаев при селекции аптамеров для отбора используют библиотеки, в которых комбинаторная область рандомизирована равномерно, то есть в каждой ее позиции равновероятно находится любой из четырех нуклеотидов. В данной работе для повышения эффективности отбора мы применили альтернативный подход, основанный на неравномерной рандомизации случайной области ДНК-библиотек с преобладанием в ряде позиций только пуриновых или только пиримидиновых дезоксирибонуклеотидов. Белок Dkk-1 для *in vitro* селекции был иммобилизован на магнитных частицах. В ходе селекции было выявлено выраженное увеличение сродства ДНК-библиотеки к белку-мишени. Данные высокопроизводительного секвенирования показали, что уже после четырех циклов отбора происходит значительное обогащение библиотеки целевыми аптамерами. Наиболее представленные в обогащенной библиотеке аптамеры были синтезированы химически, охарактеризовано их сродство к биомаркеру Dkk-1. Полученные данные говорят о перспективности использования ДНК-библиотек с пурин-пиримидиновыми чередованиями в комбинаторной области для быстрого и эффективного отбора ДНК-аптамеров.

Исследование было выполнено в рамках государственного задания ИХБФМ СО РАН (121031300042-1)

# KNOCKDOWN OF RIBOSOMAL PROTEIN eL38 IN MAMMALIAN CELLS LEADS TO A SUBSTANTIAL REORGANIZATION OF GENOMIC TRANSCRIPTION AND CHANGES IN THE TRANSLATIONAL EFFICIENCY OF SPECIFIC GENES

**Kolobova A.V.\***, Gopanenko A.V., Tupikin A.E., Kabilov M.R., Malygin A.A., Karpova G.G.  
*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk*  
\*e-mail: a.kolobova@alumni.nsu.ru

The protein eL38 is one of the smallest components of the mammalian ribosome large subunit. The haploinsufficiency of eL38 in mice leads to the Tail-short (Ts) mutant phenotype characterized by defects in the development of the axial skeleton caused by the poor translation of mRNA subsets of the Hox genes [1]. It has been shown that homozygous Ts/Ts mice die at early embryonic stage, while heterozygous Ts/+ animals usually survive and have a normal life span, although they exhibit a variety of abnormalities, including shortened and malformed tails.

Using the RNA-seq and Ribo-seq assays applied to HEK293 cells knocked down of eL38, we examined the effects of reduced content of the protein on gene expression at the transcriptional and translational levels. It was shown that the deficiency of eL38 does not significantly affect cell viability and overall translation, but leads to a substantial reorganization of the transcriptional regulation of many gene groups involved in specific pathways and to significant changes in the translational efficiency of about 150 genes [2, 3]. Among these, there were mainly genes associated with basic metabolic processes, namely, translation, protein folding, chromosome organization, splicing, and several others.

Thus, we demonstrated that a lack of eL38 significantly affects the expression of certain genes at the levels of transcription and translation. Our findings facilitate understanding of the possible causes of some abnormalities in eL38-deficient animals and shed light on the processes and pathways used by cells to adapt to the functional insufficiency of *RPL38*.

This research was supported by the Russian Science Foundation, grant number 19-14-00072.

1. Kondrashov, N., Pusic, A., Stumpf, C. R. et al. (2011) Ribosome-mediated specificity in Hox mRNA translation and vertebrate tissue patterning. *Cell*, 145(3), 383–397.

2. Gopanenko, A. V., Kolobova, A. V., Tupikin, A. E. et al. (2021). Knockdown of the Ribosomal Protein eL38 in HEK293 Cells Changes the Translational Efficiency of Specific Genes. *International journal of molecular sciences*, 22(9), 4531.

3. Gopanenko, A. V., Kolobova, A. V., Meschaninova, M. I. et al. (2021). Knockdown of the mRNA encoding the ribosomal protein eL38 in mammalian cells causes a substantial reorganization of genomic transcription. *Biochimie*, 184, 132–142.

## EXPLOITING NEXT GENERATION SEQUENCING IN STUDIES OF GENE EXPRESSION DISORDERS CAUSED BY A CELLULAR DEFICIENCY OF RIBOSOMAL PROTEINS OR MUTATIONS IN THEM

**Malygin A.A\***, Babaylova E.S., Kolobova A.V., Gopanenkov A.V., Tian Y., Tupikin A.E., Kabilov M.R., Karpova G.G.

*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk*

\*e-mail: malygin@niboch.nsc.ru

Mutations in the genes of ribosomal proteins in mammals often cause haploinsufficiency of these proteins and lead to various pathologies of organism. In humans, hereditary mutations in the genes of a number of ribosomal proteins cause Diamond-Blackfan anemia, and somatic mutations in these are related to certain types of cancer. We studied the impacts of knockdown of ribosomal proteins eL29, eL38 or uL5, as well as the outcomes of the production of erroneous forms of the uS10 protein with mutations associated with a predisposition to hereditary non-polyposis colorectal carcinoma (CRC), on the transcriptome and translatoome of HEK293 cells. Using methods based on the high-throughput sequencing of total mRNA (RNA-seq), mRNAs translated by polysomes (polysome profiling with followed RNA-seq) and mRNA fragments associated with ribosomes (Ribo-seq), we revealed sets of genes whose expression is affected by the cellular content of the above proteins or the production of aberrant uS10 forms. The downstream processing of the data enabled us to identify differently expressed genes (DEGs) at the levels of transcription and translation between two types of experimental conditions (one of which corresponds to the normal ones) in both kinds of cell samples and, besides, to determine gene sets with altered translational efficiency. The analysis of the obtained results uncovered the characteristic features of disturbances that could occur in the main cellular processes with a deficiency of eL29, eL38 or uL5 or the appearance of uS10 forms associated with a predisposition to CRC. Possible cellular pathways of carcinogenesis and development anomalies caused by an insufficiency of particular ribosomal proteins were highlighted. All this points to the promise of using new generation sequencing methods to explore gene expression disorders in pathologies linked to structural and functional defects in ribosomal proteins.

This research was supported by the Russian Science Foundation, grant number 19-14-00072.

## TOE-SEQ: A NEW METHOD TO MONITOR *IN VITRO* TRANSLATION AT HIGH THROUGHPUT SCALE

Kabilov M.R.<sup>1</sup>, Komarova E.S.<sup>2</sup>, Zotova P.A.<sup>3</sup>, Volynkina I.A.<sup>4</sup>, Pavlova J.A.<sup>3</sup>, Tupikin A.E.<sup>1</sup>, Osterman I.A.<sup>3,4</sup>, Pyshnyi D. V.<sup>1</sup>, Dontsova O.A.<sup>3,4,5</sup>, **Sergiev P.V.**<sup>2,3,4\*</sup>.

<sup>1</sup> *Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, SB RAS, Novosibirsk*

<sup>2</sup> *Institute of Functional Genomics, Lomonosov Moscow State University, Moscow*

<sup>3</sup> *Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Moscow*

<sup>4</sup> *Center of Life Sciences, Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow*

<sup>5</sup> *Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Moscow*

\*e-mail: petya@genebee.msu.su

Protein biosynthesis by the ribosomes is not only an important step of gene expression and its regulation, but also a target for multiple antibiotics. Monitoring of translation efficiency and ribosome progression along mRNAs might be addressed by several methods based on next generation sequencing. The most known is an *in vivo* ribosome profiling. However, latter method suffers from several limitations, such as too wide range of different mRNA abundancies and inability to address an influence of a particular mRNA feature while keeping other properties identical.

For a long time, a reverse transcription-based toe-printing has been a standard low throughput method to monitor ribosome movement along a particular model mRNA. Ribosome profiling and toe-printing allowed several laboratories to reveal that a number of antibiotics acting upon the ribosome inhibit translation in a sequence-specific manner, which was absolutely unanticipated previously [1, 2]. Such studies remained sparse due to the limitations of both methods. To investigate this issue comprehensively, we have developed a new method called Toe-Seq.

Toe-Seq make use of barcoded mRNA libraries with randomized regions. Reverse transcription of mRNAs being translated *in vitro* allowed us to unequivocally identify mRNA due to a barcode in its 3'-untranslated region and position ribosome by the length of cDNA product. This method has been applied to ribosome stalling by a variety of the following antibiotics: tetracycline, hygromycin B, spectinomycin and ampicillin A targeting the small ribosomal subunit, and erythromycin, chloramphenicol, tetracycline X and etamycin A binding to the 50S ribosomal subunit. Intriguingly, for most of them, a distinctive context-specificity can be observed. For chloramphenicol and erythromycin our data are consistent with those obtained earlier using the ribosome profiling technique [2, 3], thus validating the method of Toe-Seq. For a number of other antibiotics, the data on a combination of sequence and positional specificity are completely new. The Toe-Seq method allowed us to additionally assess other properties of mRNAs, such as efficiency of translation initiation and re-initiation as well as to identify natural antibiotic-independent ribosome pausing sites.

Toe-Seq method proved to be a useful tool which might have a profound influence on the research of protein biosynthesis.

The work is supported by the Russian Foundation for Basic Research [grant numbers 17-00-00369 (17-00-00366, 17-00-00367)].

1. J.Choi et al. (2020) Dynamics of the context-specific translation arrest by chloramphenicol and linezolid, *Nat Chem Biol*, **16**: 310-317.

2. K.Kannan et al. (2014) The general mode of translation inhibition by macrolide antibiotics, *Proc Natl Acad Sci U S A*, **111**: 15958-15963.

3. J.Marks et al. (2016) Context-specific inhibition of translation by ribosomal antibiotics targeting the peptidyl transferase center, *Proc Natl Acad Sci U S A*, **113**: 12150-12155.



TRANSCRIPTOME CHANGES CAUSED BY MUTATIONS IN THE *RPS20* GENE ASSOCIATED WITH A PREDISPOSITION TO HEREDITARY NON-POLYPOSIS COLORECTAL CARCINOMA

**Tian Y.**<sup>1,2\*</sup>, Babaylova E.S.<sup>1</sup>, Gopanenko A.V.<sup>1</sup>, Tupikin A.E.<sup>1</sup>, Kabilov M.R.<sup>1</sup>, Malygin A.A.<sup>1</sup>, Karpova G.G.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk*

<sup>2</sup> *Department of Molecular Biology, Novosibirsk State University, Novosibirsk*

\*e-mail: moon20160324@163.com

The ribosomal protein uS10, a product of the *RPS20* gene, is an important component of the human ribosome involved in maintaining its functionality. A number of mutations in the *RPS20* gene have been found to be associated with a predisposition to hereditary non-polyposis colorectal carcinoma. We transfected HEK293T cells with constructs carrying the minigene of uS10 ribosomal protein with mutations identical to those mentioned above and examined the effects of the produced proteins on the cellular transcriptome. We showed that uS10 carrying the disruptive mutations p.V50SfsX23 or p.L61EfsX11 cannot be incorporated into 40S ribosomal subunits, while the protein with the missense mutation p.V54L functionally replaces the respective endogenous protein in the 40S subunit assembly and translation. The comparison of RNA-seq data obtained from cells producing aberrant forms of uS10 with data for those producing the wild-type protein revealed overlapping sets of up-regulated and down-regulated differently expressed genes (DEGs), implicated in several pathways.

Up-regulated DEGs were largely associated with the p53 regulation pathway, the response to DNA damage and the induction of cellular senescence, whereas down-regulated ones, which were abundant in cells producing uS10 with the p.L61EfsX11 mutation, were mainly related to the collagen fibril organization process. Among the up-regulated DEGs, there were number of genes directly associated with the progression of colorectal cancer, e.g. *PPM1D* and *PIGN*. Our findings suggest that the accumulation of the mutant uS10 forms triggers a cascade of cellular events, similar to that which is turned on when the cell responds to a large number of erroneous proteins, and thereby may increase the risk of carcinogenesis.

This research was supported by the Russian Science Foundation, grant number 19-14-00072.



## THE ROLE OF HYDROXYLATION OF THE HUMAN RIBOSOMAL PROTEIN uL15 IN THE REGULATION OF GENE EXPRESSION AT THE LEVEL OF TRANSLATION

**Zolotenkova E.A.\***, Gopanenkov A.V., Tupikin A.E., Kabilov M.R., Malygin A.A., Karpova G.G.

*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk*

\*e-mail: e.a.zolotenkova@gmail.com

The uL15 protein is a component of the large subunit of the human ribosome and is located near the E site where uncharged tRNAs bind when leaving the ribosome. The His39 residue of uL15 is hydroxylated by the oxygenase MINA53, but this modification is impaired during hypoxia [1]. We have previously shown that the hydroxylation of uL15 at the His39 residue is important for maintaining the functionally active ribosome structure [2].

To elucidate the role of the hydroxylated His39 residue in regulation of gene expression, we transfected HEK293T cells with plasmid constructions encoding the 3×FLAG-tagged uL15 protein or its mutant form with His39Ala substitution and examined their transcriptome and translome patterns. Using the RNA-seq and polysome profiling followed by RNA-seq assays, we determined profiles of total cellular mRNAs and translated mRNAs associated with polysomes in cells with the wild-type or mutant protein, and identified differentially expressed genes at transcriptional and translational levels (tDEGs and pDEGs, respectively).

The sets of tDEGs and pDEGs were very different from each other and exposed an almost complete lack of overlap between down-regulated tDEGs and pDEGs, indicating a reorganization of gene expression regulation in cells with mutant uL15 at the translational level. The analysis of pDEG mRNA features revealed that the average length of the coding sequences of the down-regulated pDEG mRNAs was greater than that of all translated mRNAs and much larger than that of the up-regulated pDEG mRNAs. Thus, our findings show that in cells with mutant uL15, there are a decrease in the efficiency of translation of mRNAs with long reading frames and, accordingly, an increase in that of mRNAs with short ones, which can be related to the weak translational activity of ribosomes containing the non-hydroxylated protein.

This research was supported by the Russian state funded budget project of ICBFM SB RAS (reg. No. 121031300041-4).

1. Ge, W. et al. (2012) Oxygenase-catalyzed ribosome hydroxylation occurs in prokaryotes and humans, *Nat Chem Biol.*, **8**: 960-962.

2. Yanshina, D. D. et al. (2020) Replacement of hydroxylated His39 in ribosomal protein uL15 with Ala or Thr impairs the translational activity of human ribosomes. *Mol. biol.*, **54**: 449-457.

## ДНК-БАРКОДИРОВАННЫЕ СЕНСОРЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МЕХАНИЗМОВ ИНТЕГРАЦИИ ТРАНСГЕНОВ В ГЕНОМ

Смирнов А.В.<sup>1\*</sup>, Юнусова А.М.<sup>2</sup>, Баттулин Н.Р.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

<sup>2</sup>Институт генетических технологий НГУ, Новосибирск

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

Репарация двухцепочечных разрывов ДНК - это важнейшая задача для любого организма, так как неотрепарированный разрыв при делении клеток приведет к потере генетической информации. Наиболее изучены два основных пути - это негомологичное соединение концов (NHEJ) и гомологичная рекомбинация (HR). Эти пути участвуют в большом количестве разнообразных процессов, от ликвидации последствий облучения клеток ионизирующим излучением, до восстановления движения застрявшей репликативной вилки и обеспечения рекомбинации в мейозе. Однако с появлением систем геномного редактирования фокус внимания сместился на иные функции данных путей: гомологичная рекомбинация используется для точного введения генетических конструкций, а NHEJ - для нокаутирования генов. Такое прикладное применение репарации двухцепочечных разрывов ДНК делает исследование механизмов, лежащих в основе этих путей, особенно актуальным. Недавно мы разработали и применили подход, основанный на введении в клетки фрагментов ДНК, маркированных уникальными ДНК-баркодами [1]. Процессинг таких молекул клеточными системами репарации оставляет характерные паттерны при интеграции их в геном, поэтому такие баркодированные молекулы можно рассматривать как сенсоры активности определенных путей репарации. На сегодняшний день упомянутые пути рассматриваются как взаимоисключающие, то есть конкретный разрыв может репарироваться либо белковой машиной NHEJ, либо ферментами, осуществляющими HR. Однако недавно мы показали, что при микроинъекции фрагментов ДНК в пронуклеус зиготы оба пути совместно участвуют в процессинге концов ДНК. Более того мы обнаружили признаки того, что взаимодействие путей может происходить не только на начальных стадиях, когда происходит выбор пути, по которому будет репарироваться данный разрыв. Наши данные позволяют предположить, что в некоторых случаях 3'-конец, изначально процессированный ферментами гомологичной рекомбинации, позже встраивается в геном с помощью NHEJ.

1. A. Smirnov, V. Fishman, A. Yunusova, A. Korablev, I. Serova, B. V. Skryabin, T. S. Rozhdestvensky, N. Battulin. (2020) DNA barcoding reveals that injected transgenes are predominantly processed by homologous recombination in mouse zygote, *Nucleic Acids Research*, 48: 719–735.

## ПОЛУЧЕНИЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТРАНСПОЗАЗЫ Tn5 ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ NGS БИБЛИОТЕК

**Большаков А.Д., Кабилов М.Р.**

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск*

*\*e-mail: kabilov@niboch.nsc.ru*

Для приготовления ДНК-библиотек в NGS используется два основных подхода – фрагментация ДНК с последующим лигированием адаптеров и тагментация с помощью транспозазы. Тагментация представляет собой фрагментирование ДНК с одновременным присоединением адаптеров. Использование транспозазы позволяет при необходимости работать с минимальным количеством генетического материала. Из недостатков подхода можно отметить чувствительность фермента к чистоте ДНК. В России нет собственного производства транспозазы, во всяком случае коммерчески доступного, что вынуждает пользователей покупать наборы за рубежом. Учитывая высокую стоимость фермента, актуальным становится возможность его получения и использования для решения задач NGS.

Для экспрессии фермента была выбрана конструкция pETM11-6His-Sumo3-Tn5 [1], причем ген нес 7 мутаций, повышающих эффективность работы Tn5. После создания и верификации генетической конструкции её трансформировали в штамм-продуцент *E. coli* BL21(DE3) codon+RIL (Stratagene). Экспрессия белка осуществлялась в среде LB autoinduction medium, в присутствии канамицина (33,3 мкг/мл) в течение 16-18 часов при 20°C и 180 об/мин. Очитка производилась металл-хелатной хроматографии «HisPur Ni-NTA Superflow Agarose» (Thermo Scientific). Концентрацию белка определяли, используя набор «QuDye Protein Quantification Kit» (Lumiprobe) для флуориметра Qubit 2.0 (Invitrogen).

Было продемонстрировано, что выделенный фермент сравним по активности с коммерчески доступным. С помощью полученной Tn5 транспозазы были приготовлены ДНК-библиотеки, а их секвенирование на платформе Miseq (Illumina) продемонстрировало адекватность работы фермента. Далее планируется апробация Tn5 для приготовления библиотек под платформу MGISEQ, для которой пока отсутствуют коммерчески доступные наборы.

1. Hennig B.P. et al. Large-scale low-cost NGS library preparation using a robust Tn5 purification and tagmentation protocol // *G3 Genes, Genomes, Genet.* 2018. Vol. 8, № 1. P. 79–89.

## ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ТЕХНОЛОГИИ СЕКВЕНИРОВАНИЯ OXFORD NANOPORE ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ГЕРМИНАЛЬНЫХ МУТАЦИЙ

**Кечин А.А.**<sup>1,2\*</sup>, Боробова В.С.<sup>1,2</sup>, Субботина К.В.<sup>1</sup>, Боярских У.А.<sup>1</sup>, Тархов А.В.<sup>3</sup>, Филипенко М.Л.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск*

<sup>2</sup>*Новосибирский государственный университет, Новосибирск*

<sup>3</sup>*Городская клиническая больница №1, Новосибирск*

\*e-mail: aa\_kechin@niboch.nsc.ru

Одним из применений массового параллельного секвенирования (NGS) является поиск патогенных мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* у пациенток с диагнозом «рак яичников» при помощи таргетного секвенирования. Особенностью этих генов является высокая частота патогенных мутаций, приводящих к сдвигу рамки считывания, из-за чего их выявление осложняется при использовании технологий секвенирования без терминирующих нуклеотидов. Примером такой технологии является технология секвенирования с протяженными прочтениями Oxford Nanopore, качество секвенирования которой за последние годы было значительно улучшено. Однако выявление инсерций и делеций до сих пор остается проблемной областью. Целью работы стала отработка подходов к полногеномному секвенированию образцов ДНК из лейкоцитов крови пациента с 9 ранее выявленными вариациями (в том числе 1 патогенной) в генах *BRCA1* и *BRCA2* с помощью технологии Oxford Nanopore. ДНК была выделена стандартным фенол-хлороформным методом. Концентрация составила 91 нг/мкл, соотношения A260/A280 и A260/A230 – 1,85 и 2,29, соответственно. Все фрагменты в образце имели длину значительно превышающую 3000 п.о. Всего при секвенировании в течение 48 часов было получено 4,12 миллиона прочтений с суммарной длиной прочтений 15,8 миллиардов п.о. С помощью ROC-анализа были определены оптимальные параметры выявления точечных вариаций программой Pisces: минимально допустимое качество прочитанного основания – 6, минимальное качество варианта – 2; минимальное покрытие – 4. Важным результатом стало верное определение для исследуемого образца клинически значимой мутации в гене *BRCA1* с.5266dup. Для поиска структурных вариантов была использована программа NanoVar, в которой прочтения предполагаемой перестройки прочтения снова выравниваются на референс с помощью собственного улучшенного авторами программы алгоритма blastn. Таким образом, в работе были отработаны методики выявления герминальных точечных и протяженных вариантов в ДНК, выделенной из лейкоцитов крови.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента МК-4082.2021.1.4

## НОВЫЙ МЕТОД СРАВНЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ, НЕ ИСПОЛЗУЮЩИЙ ИДЕЮ ВЫРАВНИВАНИЯ

Молявко А.А.<sup>1</sup>, Садовский М.Г.<sup>2,3,5\*</sup>, Каропова Е.Д.<sup>2</sup>, Боровиков И.А.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Сибирский федеральный университет, Красноярск

<sup>2</sup>Институт вычислительного моделирования СО РАН, Красноярск

<sup>3</sup>Красноярский государственный медицинский университет им. В.Ф.Войно-Ясенецкого МЗ РФ

<sup>4</sup>Nekkar Ltd., California, USA

<sup>5</sup>Федеральный Сибирский научно-клинический центр ФМБА России, Красноярск

\*e-mail: msad@icm.krasn.ru

Сравнение символьных последовательностей является ключевым инструментом биоинформатики, молекулярной генетики, геномики и иных смежных дисциплин. В настоящее время ведущим методом сравнения является выравнивание (alignment), основывающееся на идее редакционного расстояния. Выравнивание обладает рядом недостатков: а) наличие свободных параметров (проблема эвристического подбора штрафных функций, назначаемых за элементарные преобразования), б) расходимость (необходимость формально необосновываемого изменения значений свободных параметров по мере увеличения длины сравниваемых последовательностей), в) высокая вычислительная сложность.

Представлен метод сравнения символьных последовательностей, основанный на их представлении четырьмя бинарными последовательностями, которые интерпретируются как коэффициенты многочлена. Задача сравнения двух последовательностей сводится к вычислению свёртки таких последовательностей. Эта задача не содержит свободных параметров, метод всегда сходится и является высоко эффективным: позволяет реализовать крупномасштабное распараллеливание. Свёртка вычисляется за один проход для всех возможных наложений одной последовательности на другую. Содержательно значение свёртки есть число точно совпавших символов в данном наложении одной последовательности на другую вне зависимости от их расположения по последовательности. Данный метод обобщён на случай вычисления точно совпавших пар, троек, ..., семёрок символов путём соответствующего расширения алфавита. Впервые было проведено полнохромосомное сравнение I и II хромосом человека для односимвольных совпадений; расчёты заняли 90 минут на персональном компьютере (8 ядер, 32 Gb RAM, 32 GGz). Аналогично, попарное сравнение 63 геномов коронавируса (также для однобуквенного совпадения) заняло 8 минут процессорного времени; попарное выравнивание, реализованное на суперкомпьютере, заняло 72 часа.

Основной трудностью данного метода являются локализация высоко гомологичных совпадений, для её решения также предложен ряд процедур.

## ПРОГРАММНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ ДЛЯ ИНТЕРПРЕТАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ NGS WIZARD

**Помазной М.Ю.<sup>1\*</sup>**, Вяткин Ю.В.<sup>1</sup>, Тарасенко Е.Ф.<sup>1</sup>, Старчевская М.А.<sup>1</sup>, Штокало Д.Н.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ООО “Новые Программные Системы”, Новосибирск

<sup>2</sup> Институт систем информатики СО РАН, Новосибирск

\*e-mail: [info@novel-soft.ru](mailto:info@novel-soft.ru)

NGS Wizard является веб-инструментом с графическим интерфейсом, разработанным на основе российской программной платформы Genomenal. В основу приложения положены усовершенствованные программные конвейеры, которые осуществляют автоматизированную обработку данных полногеномного и полноэкзомного NGS секвенирования, полученных с различных платформ, таких как Illumina, BGI/MGI, IonTorrent. NGS Wizard позволяет получать специализированные отчеты по заданным нозологиям, при разработке форм отчетов использовался опыт практикующих медицинских генетиков.

В результате анализа образцов десятков российских и зарубежных проектов в приложении NGS Wizard у различных пациентов были выявлены мутации, ассоциированные с различными заболеваниями. У ряда пациентов была обнаружена рекуррентная мутация MYD88 (p.Leu273Pro) в опухолевой ткани пациентов с диффузной В-крупноклеточной лимфомой, а также ряд других патогенных генетических вариантов в генах TP53, PIM1, CD79B, MSH2, CARD11, SMARCA4, KMT2D и EP300. В когорте пациентов с болезнью Паркинсона были выявлены мутации в генах LRRK2 p.A419V и PINK1 p.M318L. В когорте больных кардиомиопатией нашлась патогенная мутация MYBPC3 p.Q1233X. В спинномозговой жидкости пациентов с глиобластомой были обнаружены мутации-маркеры рецидива. В семье с частыми случаями эпилепсии были найдены случаи потери гетерозиготности в локусе 22q11.2. В семье с частым синдромом беспокойных ног были обнаружены характерные полиморфизмы в генах SEMA3A, PPP1R9A, PUS7, CDHR3, HBP1, COG5. Таким образом, NGS Wizard эффективно осуществляет обработку результатов секвенирования и идентифицирует каузативные генетические полиморфизмы, обеспечивая высокую степень автоматизации и существенное сокращение времени анализа. Облачная архитектура позволяет использовать приложение исследователям и центрам, не имеющим собственных высокопроизводительных вычислительных ресурсов.

## ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ ПОЛОЖЕНИЕ БАКТЕРИЙ КОРРЕЛИРУЕТ С ТРИПЛЕТНЫМ СОСТАВОМ ИХ ГЕНОВ 16S РНК

Абрамов В.Г.<sup>1</sup>, Садовский М.Г.<sup>1,2,3\*</sup>, Моргун А.В.<sup>3</sup>, Тетерлева А.А.<sup>4</sup>, Ларионова И.А.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Федеральный Сибирский научно-клинический центр ФМБА России, Красноярск

<sup>2</sup>Институт вычислительного моделирования СО РАН, Красноярск

<sup>3</sup>КрасГМУ им. проф. В.Ф.Войно-Ясенецкого Минздрава России

<sup>4</sup>Сибирский федеральный университет, ИФБиТ

\*e-mail: msad@icm.krasn.ru

Изучалась связь между триплетным составом генов 16S РНК бактерий и таксономическим положением их носителей. Цель работы — обоснование эффективности метода выявления связи таксономии и структуры бактерий на основе классификации без учителя по триплетным словарям. Для этого была сформирована база генов 16S РНК по открытой базе данных SILVA; затем каждый ген был преобразован в частотный словарь триплетов, после чего изучалось распределение (кластеризация) этих словарей в пространстве частот и исследовался состав выявленных кластеров.

В работе рассматривались следующие порядки бактерий: *Acidobacteriales*, *Acidimicrobiales*, *Bacteroidia*, *Chlamydiales* и *Bacillales*. Их выбор не отражает всего таксономического разнообразия секвенированных к настоящему времени последовательностей и является предварительным. Для повышения эффективности классификации и кластеризации в каждом из взятых в исследование порядков были исключены гены сверхпредставленных семейств, а также гены тех семейств, которые были представлены малой долей от числа других семейств в этом порядке.

Распределение генов изучалось методом динамических ядер и с помощью упругой карты. Показано, что гены таксонов *Acidobacteriales*, *Acidomicrobiales*, *Alicyclobacillales*, *Bacilliales*, *Brevibacillales*, *Chlamydiales*, *Exiguobacterales*, *Lactobacillales*, *Mycoplasmatales*, *Paenibacillales*, *Solibacterales*, кроме семейств *Bacteroidales* и *Staphylococcaceae* образуют весьма устойчивые и чётко отделимые кластеры в пространстве частот триплетов. Такая кластеризация выявляет сильную связь структуры (частот триплетов в генах 16S РНК бактерий) с таксономическим положением их носителей.

Данный подход может быть использован для выявления связи структуры микробиома здоровых людей и пациентов, страдающих от рассеянного склероза, с целью построения системы ранних предикторов возникновения данной патологии.



## ЕДИНАЯ ГЕНОМ-ЦЕНТРИРОВАННАЯ ВЫСОКОСТРУКТУРИРОВАННАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ АНАЛИЗА И ИНТЕРПРЕТАЦИИ ОМИКСНЫХ ДАННЫХ

**Шлихт А.Г.\***, Краморенко Н.В.

*Дальневосточный федеральный университет, Владивосток*

*e-mail: schliht@mail.ru*

Общение с порталами омиксных данных (NCBI, GO, Uniprot, KEGG) традиционно осуществляется на базе интерактивных слабоструктурированных форматов (FASTA, JSON, XML) и процедурных языков программирования (Python, R), что не позволяет обеспечить интеллектуальные методы обработки данных и сквозное прохождение информации по всем уровням омиксных данных. Решением данной задачи является создание высокоструктурированных единых реляционных моделей данных и знаний, с использованием декларативных языков программирования и технологий искусственного интеллекта. В основу созданной информационной системы (ИС) положены технологии баз данных, баз знаний, экспертных систем.

Разработанная ИС на основе единой геном-центрированной модели омиксных данных позволяет обеспечить сквозное прохождение информации по генам, мутациям, транскриптам, экзонам, интронам, белковым последовательностям, классам белков, биохимическим реакциям, биологическим функциям, физиологическим процессам, заболеваниям. Таким образом, в автоматическом режиме удастся проследить глубокие причинно-следственные связи в системе генотип–фенотип, провести анализ и интерпретацию омиксных данных от мутации до заболевания и наоборот [1,2]. Благодаря единой модели осуществляется эффективный переход от больших количественных омиксных данных к малым качественным данным фенотипа. ИС позволяет обеспечить наблюдаемость биохимических и физиологических процессов, опираясь дифференциально и интегрально на омиксные данные генома, транскриптома, протеома, метаболома, а также устанавливает соответствующие связи между ними.

Разработанная интеллектуальная ИС позволяет на порядки повысить производительность процесса анализа и интерпретации данных по сравнению традиционными интерактивными методами работы с мировыми порталами.

1. A.Shlikht, N. Kramorenko. (2020) Genome-centered integrated instrumental information system modeling and interpretation of human and virus omics, *Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology (BGRS/SB-2020)*: 114-115.

2. S.Naryzhny, A.Shlikht et al. (2020) Proteome of Glioblastoma-Derived Exosomes as a Source of Biomarkers, *Biomedicines*, 2020, 8, 216; doi:10.3390/biomedicines8070216.



## РАЗРАБОТКА ХИМИЧЕСКИХ ПОДХОДОВ К СНИЖЕНИЮ УРОВНЯ ОШИБОЧНОСТИ В СОСТАВЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ ДЛЯ СБОРКИ ГЕННЫХ КОНСТРУКЦИЙ.

**Яковлева К.И.<sup>1\*</sup>**, Переверзев И.М.<sup>1</sup>, Довыденко И.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск*  
*\*e-mail: yakovleva@niboch.nsc.ru*

Для решения задач синтетической биологии, биотехнологии, медицинской диагностики и геной инженерии необходимы синтетические фрагменты нуклеиновых кислот с заданной последовательностью нуклеотидов, созданных без использования матрицы ДНК, поэтому развитие методов точного, экономичного и высокопроизводительного синтеза протяженных олигонуклеотидов и генов имеет большое практическое значение. Методы сборки протяженных синтетических ДНК совершенствуется с каждым годом, однако, основной стадией, определяющей успех сборки, остается химический синтез олигонуклеотидов. На данный момент наиболее широко распространенным подходом к синтезу олигонуклеотидов является твердофазный амидофосфитный метод синтеза, в ходе которого возможно возникновение ошибок, связанное с недостаточно эффективным протеканием отдельных стадий синтеза. Поэтому целью данного исследования являлась разработка и оптимизация подходов к минимизации ошибок в составе олигонуклеотидов, а также протяженных синтетических генных конструкций.

В рамках данной работы были синтезированы олигонуклеотиды по созданным протоколам, которые были проанализированы методом NGS. На основе полученных данных был изучена структура ошибок, представленных в синтезированных олигонуклеотидах для платформ ASM-800 и ASM-2000. Было показано, что основную часть ошибок составляют однонуклеотидные делеции и замены, среди которых делеции A/- и C/- имеют наибольшую встречаемость (до 20%). Показано, как оптимизация протоколов синтеза олигонуклеотидов позволяет более, чем в 1.5 раза увеличить точность синтеза последовательности олигонуклеотидов,

Исследование поддержано в рамках государственного задания ИХБФМ СО РАН № 122022100237-0

## APPLICATION OF HI-C GENOME SCAFFOLDING TO IMPROVE CYTOGENETIC CHROMOSOME MAPS AND DETECT GENOMIC REARRANGEMENTS

**Fofanov M.V.<sup>1\*</sup>**, Prokopov D.Yu.<sup>1</sup>, Trifonov V.A.<sup>1</sup>, Davletshina G.I.<sup>1</sup>, Lemskaya N.A.<sup>1</sup>,  
Beklemisheva V.R.<sup>1</sup>, Proskuryakova A.A.<sup>1</sup>, Kliver S.F.<sup>1</sup>, Khan R.<sup>2</sup>, Aiden E.<sup>2</sup>,  
Graphodatsky A.S.<sup>1</sup>, Perelman P.L.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Molecular and Cellular Biology, SB RAS, Novosibirsk*

<sup>2</sup>*Baylor College of Medicine, Houston TX, USA*

\*e-mails: [fofanov@mcb.nsc.ru](mailto:fofanov@mcb.nsc.ru), [polina.perelman@gmail.com](mailto:polina.perelman@gmail.com)

Currently, a large number of animal genome assemblies have been obtained using the HiC technology. DNA Zoo Project (<https://www.dnazoo.org/assemblies>) generates and maintains growing information on over 300 chromosome-level genome assemblies for animals, most of which are simply presented as scaffolds and related information on the website and have never been researched or published before.

Comparative chromosome painting has been a main tool for the analysis of the large-scale evolutionary chromosome rearrangements. The rates of the chromosome evolution varied between taxa: conserved syntenic groups vs drastic syntenic reshuffling. However, chromosome painting has limitations: it does not reveal fine rearrangements or genome coordinates for the breakpoints, and has limited power for evolutionary distant species.

Availability of the chromosome level Hi-C assemblies provides an opportunity to compare genomes and to identify evolutionary chromosome rearrangements *in silico*. Bioinformatic approach will provide higher resolution and reveal rearrangements that remained undetected by comparative chromosome painting.

We aimed to use high-throughput sequencing data of Hi-C libraries assembled to chromosome-length scaffolds [1-2] from the DNA Zoo website for pairwise comparison of mammalian species. We selected two mammalian orders with well-studied and assembled genomes and abundant comparative chromosome painting data from the Atlas of Mammalian Chromosomes [3]: Carnivora and Cetartiodactyla. Here, the comparative bioinformatic analysis of Hi-C chromosome level assemblies has entirely reproduced chromosome painting comparative maps. We investigate if further research can reliably reveal finer chromosome rearrangements (less than 1 Mb) that are beyond the resolution of chromosome painting.

This research was funded by RSF grant # 22-24-01076.

1. Dudchenko, O. et al, 2017. De novo assembly of the *Aedes aegypti* genome using Hi-C yields chromosome-length scaffolds. *Science* 356, 92–95.

2. Dudchenko, O. et al., 2018. The Juicebox Assembly Tools module facilitates de novo assembly of mammalian genomes with chromosome-length scaffolds for under \$1000. *bioRxiv* 254797.

3. Atlas of Mammalian Chromosomes; Graphodatsky, A.S. et al.; 1st ed.; Wiley, 2020; ISBN 978-1-119-41803-0.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИЙ ГЛУБОКОГО ФУНКЦИОНАЛЬНОГО ПРОФИЛИРОВАНИЯ МИКРОБИОМА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОРАЗНООБРАЗИЯ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ *BACILLUS*

Баранова М.Н.<sup>1</sup>, Терехов С.С.<sup>1,2\*</sup>, Мокрушина Ю.А.<sup>1,2</sup>, Куджаев А.М.<sup>1</sup>,  
Смирнов И.В.<sup>1,2,3</sup>, Габибов А.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемакина и Ю.А. Овчинникова,  
Москва

<sup>2</sup>Химический факультет Московского Государственного Университета, Москва

<sup>3</sup>Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии МинЗдрава  
Российской Федерации, Москва

\*e-mail: [sterekhoff@mail.ru](mailto:sterekhoff@mail.ru)

В связи с распространением антибиотикорезистентности среди патогенов возникает острая необходимость в поиске новых противомикробных соединений. В природных микробных сообществах продукция антибиотиков является важным механизмом поддержания биоразнообразия. Симбиотическая микрофлора диких животных естественным образом обогащена штаммами, успешно конкурирующими с условно-патогенными инвазивными организмами, поэтому мы рассмотрели её как богатый источник потенциальных продуцентов новых антибиотиков и применили микрофлюидную платформу ультравысокопроизводительного скрининга для выделения антагонистов *Staphylococcus aureus*. Скрининг антибиотической активности приводил к повторяющемуся выделению штаммов *Bacillus pumilus*. Отобранные бактерии имели различные фенотипы, однако их геномы содержали схожий набор кластеров генов биосинтеза вторичных метаболитов, кодирующих антибиотик амикумадин (Ami), сидерофор бациллибактин и предполагаемые аналоги противомикробных веществ, включая бацилизин, циклический бактериоцин класса Pd, сурфактин и десферриоксамин. Анализ метаболитов показал, что антибиотический эффект в отношении золотистого стафилококка обеспечивается преимущественно амикумадином А. При этом в совместной культуре выделенные штаммы *B. pumilus* эффективно ингибировали рост как *S. aureus*, так и *E. coli*, в то время как очищенный Ami проявлял посредственную активность против большинства грамотрицательных бактерий. Мы предполагаем, что ингибирование *E. coli* при совместном культивировании обеспечивается комплексным действием вторичных метаболитов, составляющих обнаруженный биосинтетический отпечаток. Анализ генома указывает на то, что основные гены кластера Ami имеют аналогичную архитектуру для *Bacillus* и *Paenibacillus*. Эти кластеры можно разделить на три семейства, характерные для видов *B. pumilus*, *B. subtilis* и рода *Paenibacillus*. Геномный анализ кластеров биосинтеза вторичных метаболитов и метаболомное описание пробиотических штаммов микроорганизмов необходимы для дальнейшей разработки пробиотиков для борьбы с патогенами.

Работа была поддержана грантом РФФ 19-14-00331

ПРОФАГОВЫЕ ОБЛАСТИ В ГЕНОМАХ *CURTOBACTERIUM* SPP.  
И *CURTOBACTERIUM FLACCUMFACIENS* PV. *FLACCUMFACIENS*:  
ГЕНОМИКА И БЕЛКИ, РАЗРУШАЮЩИЕ КЛЕТОЧНУЮ СТЕНКУ

**Евсеев П.В.**<sup>\*</sup>, Лукьянова А.В.<sup>1</sup>, Токмакова А.Д.<sup>2</sup>, Шнейдер М.М.<sup>1</sup>, Игнатов А.Н.<sup>3</sup>,  
Попова А.В.<sup>4</sup>, Мирошников К.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова  
Российской академии наук, Москва

<sup>3</sup>Московский физико-технический институт, Долгопрудный

<sup>3</sup>Департамент агробиотехнологии, Аграрно-технологический Институт, РУДН, Москва

<sup>4</sup>ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск

\*e-mail: petevseev@gmail.com

*Curtobacterium* — род грамположительных бактерий порядка *Actinomycetales*. Некоторые представители рода *Curtobacterium*, например, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* являются экономически значимыми патогенами сельскохозяйственных культур во всем мире. Механизм фитопатогенности куртобактерий является предметом специальных исследований, которые указывают на важную роль мобильных элементов в вирулентности этих бактерий.

В ходе работы было проанализировано и аннотировано 197 общедоступных геномов куртобактерий, включая последовательности из окружающей среды. Для таксономической классификации найденных геномов был использован мультигенный филогенетический анализ. Профаговые области были предсказаны с помощью пайплайна PhiSpy и с помощью поиска гомологов консервативных фаговых белков. Был проведен анализ регионов CRISPR и поиск фагов, которые могли участвовать в их формировании.

Эволюционные отношения между куртобактериальными профагами и известными бактериофагами были исследованы с помощью филогенетического анализа с использованием консервативных белков фагов. Поиск гомологичных последовательностей и сравнение НММ профилей вместе с моделированием и структурным анализом кодируемых белков позволили обнаружить белки, содержащие ферментативные домены, в том числе, гликозидазы и пептидазы. Эти белки могут рассматриваться как кандидаты для экспериментальных исследований по созданию новых антибактериальных средств против фитопатогенов *Curtobacterium*.

Работа была поддержана грантом РФФИ №21-16-00047.

## НОВЫЕ ШТАММЫ ПРОКАРИОТ, ОБЛАДАЮЩИЕ МЕТАНОТРОФНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Кадуцкий В.К.<sup>1\*</sup>, Евграфова С.Ю.<sup>1,2,3</sup>, Кабилов М.Р.<sup>4</sup>, Батурина О.А.<sup>4</sup>,

Кривобоков Л.В.<sup>1</sup>, Лашинский Н.Н.<sup>5</sup>, Прудникова С.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт леса им. В.Н. Сукачева ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск

<sup>2</sup> Сибирский федеральный университет, г. Красноярск

<sup>3</sup> Институт мерзлотоведения СО РАН им. П.И. Мельникова, г. Якутск

<sup>4</sup> Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск

<sup>5</sup> Центральный сибирский ботанический сад СО РАН, г. Новосибирск

\*e-mail: kvkarr@yandex.ru

Метанотрофные бактерии являются ключевым элементом в системе регуляции цикла метана, и действуют подобно природному фильтру на пути эмиссии метана, окисляя и используя его в качестве источника углерода и энергии. Окисление ими метана осуществляется посредством фермента метанмонооксигеназы.

Нами были изолированы метанотрофные микроорганизмы-ассоцианты мхов и лишайников, произрастающих в мерзлотных экосистемах Прибайкалья и северной Якутии (дельта реки Лена). Метанотрофная способность была доказана в лабораторных инкубационных экспериментах с использованием газоанализатора Picarro G2201-i.

Для видовой идентификации изолятов был проведен анализ первичной структуры гена 16S рНК. На основании полученных последовательностей с помощью базы данных GenBank были найдены ближайшие гомологи полученных штаммов, определена видовая принадлежность. Точная таксономическая идентификация исследуемых микроорганизмов, а также проверка наличия генов, участвующих в метаболизме метана, была выполнена с использованием высокопроизводительного секвенирования с низким покрытием. Для решения поставленных задач была проведена сборка геномов и их аннотация. Анализ генов показал в изоляте Sp-H2 наличие последовательностей, кодирующих синтез метан-оксигеназы.

На основании степени гомологии между ближайшими гомологами и изолированными штаммами несколько штаммов были отнесены к известным видам: штамм П1 7 - представитель вида *Caballeronia udeis*, штамм D3 - представитель вида *Caballeronia sordidicola*. Таксономический анализ по коровым генам показал, что штамм Cetr-1 представляет собой новый вид архей из класса *Heimdallarchaeia*; штамм Sp-H2 - представитель вида *Paraburkholderia phenazinium* C, для которого метанотрофная активность не была описана ранее; штамм Sp-H5 - представитель нового вида из бактериального рода *Hyphomicrobium*. Для более подробного анализа на следующем этапе работы планируется получение полных кольцевых геномов всех трех изолятов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 21-17-00163.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕХАНИЗМА УПАКОВКИ ДНК И КОНЦОВ ХРОМОСОМЫ БАКТЕРИОФАГОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ NGS И RAGE

Казанцева О.А.\*, Шадрин А.М.

ФИЦ «Пушчинский научный центр биологических исследований РАН», Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, РФ.

\*e-mail: olesyakazantseva@bk.ru

Бактериофаги (фаги), вирусы бактерий. Подавляющее большинство описанных к настоящему времени фагов формируют капсиды, содержащие линейную дцДНК. Для хвостатых фагов было описано впечатляющее разнообразие механизмов упаковки, ведущих к образованию различных типов концов ДНК. Как правило выделяют 4 основных механизма упаковки ДНК фага, с 4 типами концов ДНК, соответственно: 1) концы ДНК с когезионными концами с 5'- или 3'- одноцепочечными выступами; 2) концы с прямыми концевыми повторами, короткими или длинными, размер может варьироваться от 100 п.н. до более 10 тысяч п.н.; 3) при механизме «headfull» инициация терминации происходит в определенном месте ДНК (рас-сайте), а последующие разрезы – в различных положениях, что приводит к образованию циклически пермутированной геномной ДНК с избыточными концами; 4) Ми-подобные фаги, которые амплифицируют свой геном посредством репликативной транспозиции несут на концах последовательности ДНК бактериального хозяина. Определить механизм упаковки и выявить характеристики геномной ДНК фагов, такие как избыточность последовательности и сайты расщепления, можно используя данные NGS, например с помощью программы PhageTerm [1]. Однако далеко не всегда удаётся получить подходящие данные для такого анализа. В таких случаях, точно выявить концы хромосомы фагов можно экспериментально, например, методом RAGE (rapid amplification of genomic ends), с последующим секвенированием полученных ПЦР-продуктов методом Сэнгера. RAGE был использован при исследовании фагов vB\_BtS\_B83 [2], vB\_BcM\_Sam46 [3], vB\_BcM\_Sam112 [3], Pf-10 [4] и показал высокую эффективность.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФ в рамках научного проекта № 22-15-00385.

1. J.R.Garneau et al. (2017) PhageTerm: a tool for fast and accurate determination of phage termini and packaging mechanism using next-generation sequencing data. *Scientific Reports*, 7, 8292 (2017).

2. E.G.Piligrimova, O.A.Kazantseva, N.A.Nikulin, A.M.Shadrin, (2019). *Bacillus* phage vB\_BtS\_B83 previously designated as a plasmid may represent a new Siphoviridae genus. *Viruses*, 11(7), 624.

3. O.A.Kazantseva, E.G.Piligrimova, A.M. Shadrin, (2021) vB\_BcM\_Sam46 and vB\_BcM\_Sam112, members of a new bacteriophage genus with unusual small terminase structure. *Scientific Reports*, 11, 12173.

4. O.A.Kazantseva, R.M.Buzikov, T.A.Pilipchuk, et al. (2021) The Bacteriophage Pf-10-A Component of the Biopesticide "Multiphage" Used to Control Agricultural Crop Diseases Caused by *Pseudomonas syringae*. *Viruses*. 14(1):42.

## ПОЛНОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ *NEISSERIA GONORRHOEAE* И УСТОЙЧИВОСТЬ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ

**Кандинов И.Д.\***, Кравцов Д.В., Винокурова А.С., Горшкова С.А., Шаскольский Б.Л., Дементьева Е.И., Грядун Д.А.

Центр высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины,  
Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, Москва

\*e-mail: [ilya9622@gmail.com](mailto:ilya9622@gmail.com)

Целью работы являлось изучение генетической структуры и перестроек у *N. gonorrhoeae* для выявления потенциальных маркёров адаптивного преимущества и связи с устойчивостью возбудителя к антимикробным препаратам. Выполнено полногеномное секвенирование 50 изолятов наиболее распространенного в России молекулярного типа 807 на двух платформах MinION и Illumina MiniSeq и сборка геномов *de novo*. Проведен сравнительный полногеномный анализ молекулярных типов, доминирующих в России и в мире. Выявлено от 8 до 20 характерных для каждого типа маркёров, включающих гены, связанные с адаптацией к хозяину и вирулентностью, гены адгезинов, гены, связанные с устойчивостью к антимикробным препаратам. Ключевые различия между молекулярными типами обнаружены в гонококковом генетическом острове (GGI) – важнейшей структуре для осуществления бактерией горизонтального переноса ДНК. Для глобально распространённых молекулярных типов впервые установлена связь между снижением чувствительности изолятов *N. gonorrhoeae* к антимикробным препаратам и отсутствием нарушений в генах гонококкового острова, значимых для функционирования системы секреции ДНК IV типа. При анализе геномных перестроек определены инсерционные элементы, фаги NgoФ1 - NgoФ9, элементы Корреи, элементы Спенсера-Смита. Показано, что в большинстве случаев причины инверсий и перестроек заключаются в рекомбинации между фагами и реже из-за элементов Корреи. Установлена независимость характера геномных перестроек от филогенетической близости изолятов. Разработан, запатентован и валидирован молекулярный метод оценки эффективности цефтриаксона в терапии гонореи на основе биочипа и регрессионной модели, определяющих уровень устойчивости возбудителя к современному препарату для лечения инфекции. Модель обучена с использованием характеристик 5812 изолятов *N. gonorrhoeae* со всего мира. Экспериментальная валидация метода с использованием 448 изолятов показала совпадение результатов с микробиологическим методом для 94,4% образцов.

Работа была поддержана грантом РФ 17-75-20039 и Соглашением с Министерством науки и высшего образования РФ № 075-15-2019-1660.



## ДЖАМБО-ФАГ *SINORHIZOBIUM MELILOTI*

Козлова А.П.<sup>1\*</sup>, Мунтян В.С.<sup>1</sup>, Румянцева М.Л.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Пушкин, Санкт-Петербург

\*e-mail: alexsandrak95@mail.ru

Джамбо-фаги это гигантские фаги, геномы, которых превышают 200 т.п.н. [1]. Все известные на сегодня джамбо-фаги имеют хвосты и относятся к семейству *Myoviridae*. Для клубеньковых бактерий люцерны (*Sinorhizobium meliloti*) ранее были описаны фаги M7, M12 и N3 [2], которые на основании размера их геномов (188,4, 194,7 и 206,7 т.п.н., соответственно) можно рассматривать как джамбо-фаги, относящиеся к роду *Emdodecavirus* сем. *Myoviridae*. В данной работе впервые описан джамбо-фаг AP-J-162 размером 471,5 т.п.н., который был выделен нами из почв Кавказа. Фаготипирование на штаммах *S. meliloti* показало, что данный бактериофаг лизирует до 42% исследованных штаммов.

Геном фага был секвенирован с использованием MiSeq, Illumina. Выявлено 711 ОРС, в том числе 66 тРНК и одна последовательность отнесенная к «разным РНК» (*misc\_RNA*). Анализ нуклеотидной последовательности выделенного нами фага не выявил гомологии с известными фагами. Анализ белковых аминокислотных последовательностей показал, что продукты 152 ОРС были сходны с таковыми фага *Atu\_ph07 Agrobacterium tumefaciens* (NCBI RefSeq: NC\_042013.1). Сделано предположение, что продукты 128 ОРС фага AP-J-162 участвуют в репликации, модификации, рекомбинации или репарации ДНК и метаболизме нуклеотидов, а также в трансляционных и посттрансляционных процессах, специфичных для фагов. Также выявлены последовательности, кодирующие структурные белки: головы, хвоста и базовой пластинки.

Таким образом, в данной работе впервые приведена информация о крупном джамбо-фаге, специфичном к клубеньковым бактериям люцерны, который был выделен в генцентре бобовых растений на Кавказе.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ 20-16-00105.

1. Y. Yuan, M. Gao. (2017) Jumbo Bacteriophages: An Overview, *Front Microbiol*, **8**: 403.

2. J. Hua, A. Huet, C. A. Lopez, K. Toropova, W. H. Pope, R. L. Duda, R. W. Hendrix, J. F. Conway. (2017). Capsids and Genomes of Jumbo-Sized Bacteriophages Reveal the Evolutionary Reach of the HK97 Fold, *mBio*, **8**(5), e01579-17.



## ИЗУЧЕНИЕ СТРАТЕГИЙ ВЫЖИВАНИЯ БАКТЕРИЙ *BACILLUS THURINGIENSIS* В ОРГАНИЗМЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО И РЕЗИСТЕНТНОГО ХОЗЯИНА

**Крыцына Т. И.,\*** Гризанова Е. В., Терещенко Д. С., Дубовский И. М.  
Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск  
\* e-mail: krytsyna@list.ru

*Bacillus thuringiensis* (*Bt*) – энтомопатогенные бактерии, основа биопрепаратов для контроля численности насекомых-вредителей сельского хозяйства. В организме насекомого бактерии, при определенной численности популяции, запускают механизм межклеточного взаимодействия (Quorum sensing, QS), позволяющий скоординировать экспрессию генов, посредством активации транскрипционных регуляторов вирулентной (PlcR), некротрофной (NprR) или спорообразующей (SpoOA) фаз жизненного цикла в зависимости от условий окружающей среды. В нашей работе впервые проведены исследования с помощью относительного анализа уровней экспрессии мРНК по 18 генам, относящихся к регуляторам системы QS и подконтрольным им факторам вирулентности бактерий. Экспрессия генов *Bt* проанализирована при пероральном заражении чувствительной и резистентной к данным бактериям линий личинок вощиной огневки *G. mellonella*. Это сделано для лучшего понимания взаимодействия в системе патоген-хозяин, особенно в условиях повышения устойчивости насекомых к бактериальной инфекции. Ранее было установлено, что в резистентном хозяине бактерии сталкиваются с многофакторной защитной системой и могут подвергаться селективному давлению. В данной работе показано, что в погибших от *Bt* насекомых чувствительной и резистентной линии у бактерий преобладала активность регулона некротрофной стадии NprR по отношению к регулону вирулентной стадии PlcR, что предсказуемо, так как требуется для стратегии выживания бактерий в погибших насекомых. Однако, при этом, по сравнению с *Bt* из резистентных насекомых у *Bt* из чувствительной линии наблюдается повышенная экспрессия регулона вирулентной стадии PlcR ( $p < 0,0001$ ) и подконтрольных ему генов гемолизина и энтеротоксинов. У *Bt* из резистентной линии, на фоне высокой активности генов NprR и металлопротеиназы отмечается так же повышение экспрессии регулятора спорообразования SpoOA ( $p < 0,05$ ), подавляющего PlcR. Предполагается, что различия в экспрессии регуляторов жизненного цикла популяций *Bt* в условиях заражения чувствительного и резистентного хозяина обусловлены дифференциацией субпопуляций бактерий, как приспособительной стратегией для выживания в устойчивом хозяине, и подлежит дальнейшему изучению, особенно в кишечнике живых зараженных *Bt* насекомых, в том числе с привлечением высокочувствительного метода цифровой ПЦР.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ № 20-76-00025.

## ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ГОМЕОСТАЗА МЕДИ У *L. BORONITOLERANS*

Миронова Т.Е.<sup>1,2</sup>, Батурина О.А.<sup>1</sup>, Афонюшкин В.Н.<sup>2</sup>, Кабилов М.Р.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г.Новосибирск

<sup>2</sup>Сибирский федеральный центр агробиотехнологий РАН, п. Краснообск

При посеве 23 образцов микрофлоры зерна пшеницы единственным штаммом, который был изолирован на среде, содержащей высокую токсическую концентрацию сульфата меди (до 1%) был изолят КЭМТК 4376. Изолят обладал не только высокой устойчивостью солям меди, но и был способен накапливать их в составе микробальной биомассы (до 22,3 мг/1 г сухой биомассы [1]).

Для уточнения таксономии изолята было проведено полногеномное секвенирование с помощью двух NGS платформ MinIoni Miseq. В результате *denovo* сборки генома с использованием TruSeq, Medaka и Pilon был получен кольцевой геном 4.6 Мб с GC-составом 37.8%. Таксономический анализ на основе полного генома с помощью GTDB-*tk* позволил идентифицировать изолят как *Lysinibacillus boronitolerans*. Данный вид был открыт относительно недавно и относится к спороформирующим грамм-положительным подвижным палочковидным бактериям, обладающим устойчивостью к бору. Кольцевой полный геном *L. boronitolerans* до этого момента в базах данных отсутствовал.

Аннотирование генома с помощью Rast-*tk* выявило 1573 генов, среди которых были идентифицированы гены, отвечающие за гомеостаз меди, представленные ферментами - мультимедными оксидазами. Также были найдены ферменты АТФазы Р-типа (обеспечивающие трансмембранный перенос ионов Cu), а также гены белков-транспортеров множественной лекарственной устойчивости семейства Bcr/CfA. Высокое сродство связывания переходных металлов с их транспортерами, делает трансмембранный транспорт функционально необратимым и наиболее вероятным для объяснения факта накопления ионов меди в микробной биомассе.

Факт накопления меди в составе сухой биомассы *L. boronitolerans* позволяет говорить о расширенном спектре механизмов устойчивости к меди, включающих снижения токсичности этого элемента не только путем трансмембранного переноса, но и путем связывания с биополимерами.

Работа была поддержана МинОбрНауки РФ (номер соглашения 075-15-2021-1085).

1. Донченко Н.А., Афонюшкин В.Н., Николаева И.В., Храпов Е.А., Мишукова О.В., Троменшлегер И.Н., Филипенко М.Л., Давыдова Н.В. Изучение представителей микробиоты зерна, устойчивых к солям меди, цинка, марганца и йода // Сиб. вестник сельскохоз. науки. 2017. Т. 47. № 5 (258). С. 64-71.

## ПЛАЗМИДНЫЕ ПРОФАГИ *VACILLUS CEREBUS* МОГУТ БЫТЬ ИСТОЧНИКОМ БОГАТОГО РАЗНООБРАЗИЯ ФАГОВ

Пилигримова Э.Г.<sup>1</sup>, Казанцева О.А.<sup>1</sup>, Казанцев А.Н.<sup>2</sup>, Никулин Н.А.<sup>1</sup>,  
Скорынина А.В.<sup>1</sup>, Копосова О.Н.<sup>1</sup>, **Шадрин А.М.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина, Пушчинский научный центр биологических исследований Российской Академии наук, Федеральный исследовательский центр, 142290, Пушкино

<sup>2</sup>Физический институт имени П.Н. Лебедева РАН, Пушчинская радиоастрономическая обсерватория, 142290, Пушкино

\*e-mail: kanzleranemone@gmail.com

Бактериофаги (фаги) — это вирусы бактерий. Некоторые фаги способны длительное время поддерживаться в клетке штамма-хозяина в состоянии профага (молекулы геномной ДНК бактериофага). Профаги могут быть интегрированными в геном бактерии или автономными (плазмидными), линейными или циркулярными. В данной работе был проведен поиск циркулярных плазмидных профагов в геномах бактерий группы *Bacillus cereus*. Такие профаги представляют особый интерес, поскольку их сложнее обнаружить, используя классические, основанные на культивировании, подходы.

Поиск проводили среди всех геномов плазмид бактерий группы *Bacillus cereus* в диапазоне 15 тпн - 500 тпн, доступных в базе данных GenBank на 25 апреля 2020 года. Кандидатные сиквенсы отбирались по критерию наличия в них: (1) всех генов, типичных для структурных модулей хвостатых бактериофагов, (2) генов, типичных для большинства известных на данное время плазмидных профагов. Кандидатные профаги были объединены в группы по степени родства. В результате были получены 28 групп кандидатных профагов, 23 из которых по степени удаленности от известных вирусов соответствуют новым родам официальной вирусной таксономии.

Одним из аспектов, осложняющих таксономическую классификацию плазмидных профагов, является необходимость их экспериментальной верификации, заключающейся в индукции литического цикла и получении фаговых вирионов, генетически идентичных секвенированному профагу. Верификация была проведена для бактериофага vB\_BtS\_B83, с последующим определением спектра штаммов-хозяев, механизма упаковки ДНК и таксономического положения данного фага. Бактериофаг vB\_BtS\_B83 стал первым представителем двух новых таксонов: подсемейства *Skryabinvirinae* и рода *Pushchinovirus*.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта № 22-15-00385.

## ГЕТЕРОЛОГИЧЕСКАЯ ПРОДУКЦИЯ АНТИМИКРОБНЫХ ПЕПТИДОВ В МЕТИЛОТРОФНЫХ ДРОЖЖАХ *PICHTIA PASTORIS*

Пипия С.О.<sup>1</sup>, Мирзоева Н.З.<sup>1</sup>, Мокрушина Ю.А.<sup>1,2</sup>, Габиров А.Г.<sup>1,2</sup>, Смирнов И.В.<sup>1,3</sup>, Терехов С.С.<sup>1,2\*</sup>.

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова, РАН, Москва

<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва

<sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва

\*e-mail: [sterekhoff@gmail.com](mailto:sterekhoff@gmail.com)

Распространение штаммов бактерий с множественной лекарственной устойчивостью представляет собой серьезную угрозу для глобального здравоохранения. В связи с этим возникает необходимость в новых противомикробных препаратах. Перспективными кандидатами на эту роль являются антимикробные пептиды (АМП), так как механизм их действия часто включает разрушение бактериальной мембраны, что приводит к чрезвычайно низкому уровню возникновения резистентности. Химический синтез не является универсальным вариантом производства АМП, а кроме того, не позволяет реализовать сверхвысокопроизводительные технологии для обнаружения новых АМП. Метилотрофные дрожжи *Pichia pastoris* являются удобной платформой для биотехнологического получения АМП, поскольку обладают рядом преимуществ, таких как быстрый рост, относительно низкая стоимость производства, высокие выходы рекомбинантных белков и разнообразие посттрансляционных модификаций. Наиболее часто используемым промотором для гетерологической экспрессии рекомбинантных белков в *P. pastoris* является метанол-индуцируемый промотор алкогольоксидазы I (АОХ). Несмотря на преимущества высокого выхода и улучшенной продукции токсичных белков, промотор АОХ не удобен для массового скрининга противомикробной активности. В этой работе мы использовали промотор глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы (GAP) для создания штаммов дрожжей, конститутивно продуцирующих АМП. Рекомбинантные штаммы дрожжей эффективно ингибировали рост репортерного штамма *Escherichia coli*, образуя четкие зоны ингибирования роста. Реализация данного подхода усилит биотехнологическую разработку АМП, а также позволит перейти к широкомасштабному скринингу антимикробной активности библиотек АМП с помощью сверхвысокопроизводительных технологий.

Работа поддержана грантом 21-14-00357 Российского научного фонда.

## НАНОПОРНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ И АНАЛИЗ ДАННЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЕНОМОВ

Хренова М.Г.<sup>1,2\*</sup> Родин В.А.<sup>1</sup>, Панова Т.В.<sup>1</sup>, Лукьянов Д.А.<sup>1,3</sup>, Остерман И.А.<sup>1,3</sup>,  
Зверева М.Э.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва

<sup>2</sup>Институт биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва

<sup>3</sup>Сколковский институт науки и технологии, Центр наук о жизни, Сколково

\*e-mail: mkhrenova@lcc.chem.msu.ru

Секвенирование с использованием технологии Oxford Nanopore, или нанопорное секвенирование, является привлекательной альтернативой существующих на сегодняшний день методов. К числу достоинств можно отнести меньшую стоимость приборов, а также возможность получения длинных цепочек прочтения. Стандартная длина прочтения – от нескольких тысяч оснований до десяти-двадцати тысяч. Такие длинные прочтения делают возможным выявление повторяющихся фрагментов больших размеров в геноме, что встречается в бактериальных геномах. Также, к явным преимуществам относится отсутствие необходимости проводить амплификацию и возможность определения модификаций нуклеиновых кислот, например, метилирования. В то же время, к недостаткам этого метода следует отнести высокую погрешность определения оснований в прочтении. Однако это может быть скомпенсировано большой глубиной покрытия. Представленная работа является методической и направлена на изучение возможностей нанопорного секвенирования для изучения бактериальных геномов.

В работе подробно изучаются различные протоколы анализа данных, необходимое качество исходных данных и глубина прочтения, а также возможности определения делеций и вставок большого размера, а также точечных вариаций. В качестве модельного объекта использован геном бактерии *E.coli* с доказанной делецией гена *tolC* (штамм JW5503)[1]. В работе рассматриваются биоинформатические методы сборки генома *de novo*, а также наложением на известный референсный геном. Проводится сравнение методов и определяется зависимость качества сборки от глубины прочтения.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации «Анализ микробиомов растений и беспозвоночных животных экстремальных мест обитания с целью разработки штаммов-продуцентов новых метаболитов и ферментов» № 075-15-2021-1396 от 26 октября 2021 года.

1. T.Baba, T.Ara, M.Hasegawa, Y.Takai, Y.Okumura, M.Baba, K.A.Datsenko, M.Tomita, B.L.Wanner, H.Mori (2006) Construction of *Escherichia coli* K-12 in-frame, single-gene knockout mutants: the Keio collection, *Mol. Syst. Biol.* **2**: 2006.0008.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ  
*WOLBACHIA PIPIENTIS*, РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ВЛИЯНИЮ НА  
СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТЬ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

**Шишкина О.Д.**<sup>1\*</sup>, Андреевкова О.В.<sup>1</sup>, Клименко А.И.<sup>1</sup>, Коренская А.Е.<sup>1</sup>,  
Васильев Г.В.<sup>1</sup>, Шацкая Н.В.<sup>1</sup>, Груntenко Н.Е.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН), Новосибирск

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

Одним из ярких примеров симбиотических взаимоотношений является симбиоз насекомых с внутриклеточной бактерией *Wolbachia pipientis*, широко распространенной в природе. Физиологические аспекты влияния вольбахии на хозяина достаточно хорошо описаны, однако молекулярные механизмы взаимодействий в этой системе остаются малоизученными.

В нашей лаборатории был найден уникальный штамм *Wolbachia pipientis*, wMelPlus, повышающий устойчивость насекомого-хозяина к тепловому стрессу [1,2]. Прояснить причину возникновения положительного эффекта может сравнительный геномный анализ штаммов, различающихся по влиянию на насекомого-хозяина. С этой целью мы получили и проанализировали геномы двух штаммов *Wolbachia pipientis*, wMelPlus и wMelCS, относящихся к одной группе генотипов и отличающихся по влиянию на стрессоустойчивость *Drosophila melanogaster*. Расшифровка нуклеотидных последовательностей штаммов была проведена высокоэффективным методом NGS секвенирования на платформе Illumina MiSeq. Сборка геномов штаммов была проведена с использованием инструментов SPAdes, MinYS, Pilon, Ragout и Gfinisher. Комбинация инструментов для *de novo* сборки и инструментов сборки с опорой на референсный геном позволила получить сборки геномов штаммов вольбахии, пригодных для дальнейшего сравнительного анализа. Аннотация полученных геномов производилась с помощью программного конвейера для аннотации прокариотических геномов prokka. Сравнение полученных геномов штаммов wMelPlus и wMelCS позволило выявить значимые различия между ними. Полученные результаты вносят вклад в понимание механизмов влияния эндосимбионта на приспособленность насекомого-хозяина.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (№ 21-14-00090).

1. N.E., Gruntenko et al., (2017). Various *Wolbachia* genotypes differently influence host *Drosophila* dopamine metabolism and survival under heat stress conditions. BMC Evol Biol, 17(2):252. doi: 10.1186/s12862-017-1104-y.

2. E. V. Burdina., (2021). Unique *Wolbachia* strain wMelPlus increases heat stress resistance in *Drosophila melanogaster*. Arch Insect Biochem Physiol. V. 106. № 4:e21776.

## INVESTIGATION AND CLINICAL EVALUATION OF ANTI-SARS-COV-2 NOVEL NUCLEOSIDE ANALOGUE

Mansour O.<sup>1,2\*</sup>, Komissarov A.B.<sup>1</sup>, Potekhin A.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Smorodintsev Research Institute of Influenza, Russian Ministry of Health*

<sup>2</sup>*SPBU «Saint Petersburg State University»*

\**e-mail: st091989@student.spbu.ru*

Emerging COVID-19, caused by SARS-CoV-2 virus has been accorded priority status by WHO and government agencies to find effective means of preventing and treating this infection. At present, it seems promising to repurpose already known pharmaceuticals, in particular nucleoside analogues for the treatment of COVID-19. Nucleoside analogues are promising class of antivirals, which inhibit the RNA dependent RNA polymerase (RdRp) through multiple mechanisms of action. These agents have been widely used for treatment of many viral infections (e.g. HCV, influenza, Ebola virus). 2'-deoxy-2'-β-fluoro-4'-azidocytidine (FNC or Azvudine) is a novel nucleoside reverse transcriptase inhibitor with antiviral activity against HIV, HBV and HCV viruses. In vitro studies revealed strong promising suppression efficacy.

The present study aims to assess the replication of the SARS-CoV-2 virus and its genetic variability during the treatment of patients with COVID-19 with the nucleoside analogue Azvudine.

Nasopharyngeal swabs were collected on days 0 (before drug or placebo), days 3, 5, and 7 of the study. Till today, we received material from 10 patients who took part in the clinical study at the City Hospital No. 40, Kurortny District, St. Petersburg. Thirty nasopharyngeal swab samples from 10 patients were tested by PCR for the detection of SARS-CoV-2 RNA. Nineteen patients were positive for SARS-CoV-2. Of these, 3 patients had SARS-CoV-2 RNA on days 0 and 3; in 3 patients - on days 0, 3 and 5; and one on days 0, 3, 5 and 7. All positive samples were then subjected to genome-wide amplification of SARS-CoV-2 virus RNA for further sequencing.

Based on the results of sequencing, the SARS-CoV-2 genome sequences were obtained from 11 samples (7 patients). All analyzed viruses belonged to the AY.122 genetic line according to the PANGO classification (Delta-like according to the WHO classification). Additional samples are currently being collected to investigate the change in the genetic heterogeneity of the SARS-CoV-2 population under the influence of 2'-deoxy-2'-β-fluoro-4'-azidocytidine.



ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ СОСТАВ СООБЩЕСТВ СУЛЬФАТРЕДУЦИРУЮЩИХ  
МИКРООРГАНИЗМОВ В ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ БАРЕНЦЕВА МОРЯ  
НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ДАННЫХ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО  
СЕКВЕНИРОВАНИЯ ФРАГМЕНТОВ ГЕНА 16S рРНК

Брюханов А.Л.<sup>1\*</sup>, Кадников В.В.<sup>2</sup>, Царовцева И.М.<sup>3</sup>, Саввичев А.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва

<sup>2</sup>Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва

<sup>3</sup>АО «Всероссийский научно-исследовательский институт гидротехники имени Б.Е. Веденеева», Санкт-Петербург

\*e-mail: brjuchanov@mail.ru

Сульфатредуцирующие бактерии (СРБ) – строго анаэробные микроорганизмы, получающие энергию путём окисления низкомолекулярных органических соединений или водорода с использованием сульфата в качестве конечного акцептора электронов. СРБ играют ключевую роль в глобальных биогеохимических циклах углерода и серы в Мировом океане [1]. Кроме того, велико значение этих микроорганизмов в процессах микробной коррозии, а также в биоремедиации загрязнённых вод от тяжёлых металлов. Целью данной работы являлось изучение филогенетического состава сообществ СРБ в окисленных и восстановленных донных отложениях акватории Баренцева моря. Для этого применяли высокопроизводительное секвенирование ампликонов V3-V4 региона гена 16S рРНК с последующим анализом оперативных таксономических единиц (ОТЕ) с помощью программы Usearch [2]. Классификацию полученных ОТЕ проводили по базе последовательностей рРНК Silva [3]. Наиболее многочисленными микроорганизмами, участвующими в восстановлении соединений серы в донных отложениях Баренцева моря, оказались представители семейств *Desulfobulbaceae*, *Desulfobacteraceae*, *Desulfovibrionaceae*, *Desulfarculaceae* и *Desulfuromonadaceae*, а также некультивируемых клад SAR324 и Sva0485 [4]. Интересно, что в поверхностных окисленных донных отложениях преобладали СРБ семейства *Desulfobulbaceae*, причём представлявшие собой некультивируемые подгруппы. Таким образом, нами впервые было показано наличие филогенетически разнородных микробных сообществ цикла серы в уникальной и малоизученной донной экосистеме Баренцева моря.

Работа была поддержана грантами РФФИ 18-29-05031 мк и 20-04-00487 А.

1. B.V.Jørgensen. (1982) Mineralization of organic matter in the seabed – the role of sulphate reduction, *Nature*, **296**: 643-645.

2. R.C.Edgar. (2010) Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST, *Bioinformatics*, **26**: 2460-2461.

3. C.Quast et al. (2013) The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools, *Nucleic Acids Research*, **41**: D590-D596.

4. A.L.Brioukhanov et al. (2022) Phylogenetic diversity in sulphate-reducing bacterial communities from oxidised and reduced bottom sediments of the Barents Sea, *Antonie van Leeuwenhoek*, in press.



## ДИНАМИКА БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ ПЕЛАГИАЛЬНОЙ И ЛИТОРАЛЬНОЙ ЗОН ОЗЕРА БАЙКАЛ В ПЕРИОД ПРЯМОЙ ТЕМПЕРАТУРНОЙ СТРАТИФИКАЦИИ

Галачьянц А.Д., Зименс Е.А.\*, Краснопеев А.Ю., Тихонова И.В., Потапов С.А.,  
Подлесная Г.В., Суслова М.Ю., Суханова Е.В., Горшкова А.В., Белых О.И.

*Лимнологический институт СО РАН, Иркутск*

\*e-mail: shamshurasya@gmail.com

Пробы воды отбирали 2 раза в месяц с июня по октябрь 2020 г. на литоральной и пелагиальной станциях: вблизи п. Большие Коты (с глубины 0 м) и в 7 км от п. Листвянка (глубина 0, 5, 10, 15 и 25 м). Всего отобрано 48 проб. Определяли общую численность бактерий (ОЧБ) методом эпифлюоресцентной микроскопии, физико-химические параметры воды (температура, рН, содержание кислорода, фосфатов, нитратов, органического углерода), выделяли ДНК методом фенол-хлороформной экстракции. Библиотеки ампликонов секвенировали на платформе Illumina методом парно-концевых прочтений 2:250 пн (регион V3-V4 гена 16S рРНК).

ОЧБ колебалась в пределах  $0,5 - 2,5 \times 10^6$  кл/мл, достигая максимума в первой половине августа, после чего постепенно снижалась. Содержание органического углерода в воде достигало наибольших значений ( $2,7 \text{ мг/дм}^3$ ) во второй половине июля – начале августа, после чего начинало уменьшаться. Фосфаты и нитраты, напротив, начинали снижаться уже в середине июня, достигая к началу июля минимальных значений ( $0,004 \text{ мг/дм}^3$  и  $0,04 \text{ мг/дм}^3$ , соответственно) и оставаясь на таком уровне до середины сентября, после чего они начинали повышаться. Содержание кислорода в воде начинало снижаться в начале июля, достигая минимума ( $7,5 \text{ мг/дм}^3$ ) во второй половине августа, потом начинало повышаться. Температура воды колебалась в пределах  $5,3 - 15 \text{ }^\circ\text{C}$ , максимальные значения были достигнуты во второй половине августа.

Методом AMOVA показано, что состав микробных сообществ оставался стабильным в течение всего периода наблюдений как в литоральной, так и в пелагиальной зоне. Также в пелагиальной зоне не было выявлено изменений состава микробиома воды в зависимости от глубины (0 – 25 м). В то же время наблюдали различия в составе бактериальных сообществ литоральной и пелагиальной зон на уровне доминирующих фил. Так, в литоральной зоне была выше представленность филы Proteobacteria (в среднем 24%), в то время как средние показатели для пелагической станции были 15%. В то же время доля бактерий филы Actinobacteria была выше в пелагиали (в среднем 38%), в то время как в литорали она составила в среднем 27%. Остальные доминирующие филы – Cyanobacteria, Verrucomicrobia, Bacteroidota – были представлены сопоставимо на обеих станциях.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ПОДХОДОВ  
ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ПРИ АНАЛИЗЕ  
МИНИМАЛЬНЫХ ЦЕЛЛЮЛОЗОЛИТИЧЕСКИХ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ

**Гладков Г.В.**<sup>1\*</sup>, Лисина Т.О.<sup>1</sup>, Кимеклис А.К.<sup>1,2</sup>, Кичко А.А.<sup>1</sup>, Афонин А.М.<sup>1</sup>,  
Андронов Е.Е.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>*Всероссийский институт сельскохозяйственной микробиологии, Пушкин, Санкт-Петербург*

<sup>2</sup>*Санкт-Петербургский Государственный университет, Санкт-Петербург*

<sup>3</sup>*Почвенный институт им. В.В. Докучаева, Москва*

*\*e-mail: ruginodis@gmail.com*

Поиск и анализ минимальных устойчивых ассоциаций микроорганизмов, выделенных с естественных целлюлозосодержащих субстратов, являются важным шагом к созданию высокоэффективных биопрепаратов. В нашей работе мы постарались совместить классический микробиологический культуромный подход с технологиями, основанными на высокопроизводительном секвенировании. Целью нашего исследования было выделить из различных субстратов (солома овса, лиственной опад, опилки) минимальные микробные сообщества, способные разлагать лигноцеллюлозу, проанализировать их таксономический состав и найти различия между ними в функциональных генах. С использованием серий разведений на селективной жидкой среде были выделены четыре стабильные микробные ассоциации, проявляющие целлюлозолитическую активность. Библиотеки генов 16S рРНК для бактерий и ITS для грибов из полученных культур были просеквенированы с использованием технологии Illumina. Различия между сообществами были описаны с использованием методов анализа композиционных данных. Кроме того, для каждого сообщества были получены метаженомы с использованием технологии Oxford Nanopore. Таксономический состав исследованных сообществ достоверно отличался, а субстрат специфичность оказалась ассоциирована с таксономическим уровнем ниже рода. Использование длинных прочтений позволило нам получить информацию о наличии кластеров генов, ассоциированных с разложением лигноцеллюлозы, и выявить геномы микроорганизмов, ранее не описанных в целлюлозолитических сообществах. Микробное сообщество, образованное на листовом опаде, показало наибольшее отличие от других по функциональным генам, а именно по углевод-связывающим модулям и транспортным белкам, ассоциированным с кластерами генов целлюлозолитических белков.

Исследование выполнено за счет гранта РНФ, проект № 18–16–00073.

# МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ КАК ИНСТРУМЕНТ ОЦЕНКИ АКТИВНОСТИ И СТРУКТУРЫ СООБЩЕСТВ МЕТАНОГЕННЫХ АРХЕЙ В ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ РЕКИ ЕНИСЕЙ

Децура А.Е.<sup>1\*</sup>, Евграфова С.Ю.<sup>1,2</sup>, Зверев А.А.<sup>3</sup>, Абакумов Е.В.<sup>3</sup>, Прокушкин А.С.<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Институт леса им. В.Н. Сукачева ФИЦ КНЦ СО РАН, г. Красноярск

<sup>2</sup>Сибирский федеральный университет, г. Красноярск

<sup>3</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург

\*e-mail: annadetsura@gmail.com

Сообщества метаногенных и метанотрофных архей играют одну из ключевых ролей в процессах биогеохимической трансформации, круговорота и переноса углерода и биогенных соединений из наземных экосистем в водные. В результате накопления большого количества органического вещества донные отложения пресных водоемов являются местом активного производства метана. Исследования эмиссии  $\text{CH}_4$  в большей части охватывают эстуарии крупнейших рек Сибири и заключаются в измерении концентрации  $\text{CH}_4$ , вклад и влияние микробных сообществ при этом не учитывается [1]. Целью настоящей работы стало использование метагеномного подхода для более подробной реконструкции биогеохимических процессов метанообразования в донных отложениях р. Енисей.

Для проведения исследования были отобраны образцы донных отложений с 18 точек расположенных по течению реки Енисей с  $56.0^\circ$  с.ш. по  $67.4^\circ$  с.ш. Концентрации  $\text{CO}_2$  и  $\text{CH}_4$  выделяемые отложениями, а также величины  $\delta^{13}\text{C}-\text{CH}_4$  и  $\delta^{13}\text{C}-\text{CO}_2$  измерялись в ходе инкубации отложений (Picarro 2201-i, США). Определение таксономической структуры сообществ архей проводилось методом выделения ДНК с последующим секвенированием области V4 гена 16S рРНК и анализом полученных ампликон-сиквенс вариантов (ASV).

В результате анализа ампликонов было обнаружено 52 различных типа бактерий и архей; при этом метаногенные и метанотрофные архей были представлены только 0.5-0.6% от общего числа полученных последовательностей. В структуре метаногенного сообщества архей донных отложений доминировали архей родов *Methanosarcina*, *Methanosaeta* и *Methanoregula*. ASV этих архей преобладали на промежутке реки  $56^\circ$  с.ш. -  $61^\circ$  с.ш., где эмиссия  $\text{CH}_4$  была наибольшей, а значения  $\delta^{13}\text{C}-\text{CH}_4$  указывали на метилотрофный и ацетокластический метаногенез. На участке  $61^\circ$  с.ш. -  $64^\circ$  с.ш. заметно (до 190 раз) снижалось число ОТЕ метаногенных архей и одновременно с этим падала метаногенная активность и величина  $\delta^{13}\text{C}-\text{CH}_4$ , т.е. наблюдался переход от ацетокластического метаногенеза к гидрогенотрофному. Вместе с этим, на данном промежутке реки отмечалось повышение числа ASV архей *Candidatus Methanoperedens*, которые являются анаэробными метанотрофами.

Так совместное использование методов инкубации и метагеномного анализа сообществ показало, что наибольшей метанобразующей активностью обладают те сообщества, структура которых наиболее разнообразна, а в составе количественно доминируют *Methanosarcina spp.*, которые, как известно, способны осуществлять метаногенез с использованием всех изученных метаболических путей.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-05-60203 Арктика и гранта РНФ № 21-17-00163.

1. Shakhova N. et al. The East Siberian Arctic Shelf: towards further assessment of permafrost-related methane fluxes and role of sea ice //Philosophical Transactions of the Royal Society A, V. 373, №. 2052, PP. 1-13 (2015).

## СОСТАВ И СТРУКТУРА АРХЕЙ В БИОПРЕПАРАТЕ «ТОР-ОРГАНИК»

Рубцов А.А.\* , Заушинцева А.В.

Кемеровский государственный университет, Кемерово

e-mail: alex.rub@bk.ru

Препарат «ТОР-органик» произведен из отходов животных в биогазовой установке, перспективен для использования в органическом земледелии за счет высокого разнообразия микробоценоза (1339 ОТЕ), представителями которого являются как аэробные, так и анаэробные микроорганизмы.

Цель исследований: изучение состава и структуры типа Euryarchaeota таксономической структуры биопрепарата в процессе метагеномного исследования. Для исследования подготовлен усредненный образец биопрепарата. Из него экстрагирована тотальная ДНК, проведена амплификация ее участков V3-V4 высоко консервативным геном 16S рРНК с использованием баркодированных праймеров. Ампликоны секвенированы с высоким покрытием на платформе Miseq (Illumina).

В микробиоме *Archaea* данного препарата установлено 26 операциональных таксономических единиц (ОТЕ). Около 88,5% из них, включены в отдел 2, – *Euryarchaeota*, соответствуют трем классам *Methanobacteria*, *Methanomicrobia* и *Thermoplasmata*. Второй из них был самым представительным. Из 10 ОТЕ 4 идентифицированы до вида: *Methanothrix soehngenii*, *Methanofollis ethanolicus*, *Methanimicrococcus blatticola* и *Methanoculleus bourgensis*. В среднем они могут составлять более 33% в микробоценозе препарата Тор-органик.

В составе класса *Methanobacteria* выявлено 8 ОТЕ, 4 из которых также идентифицированы до вида: *Methanobrevibacter millerae*, *Methanobacterium congolense*, *Methanobrevibacter wolinii* и *Methanobrevibacter acididurans*. Класс *Thermoplasmata* представлен пятью операциональными таксономическими единицами, но однозначно идентифицирован вид *Methanomassiliicoccus luminyensis*. Другие единицы необходимо исследовать дополнительно. По предварительным результатам выделено 3 вида, которые могут служить маркерными представителями для контроля биопрепарата «ТОР-органик»: *methanomassiliicoccus luminyensis*, и по одной от *methanocorpusculum* sp. и *methanosarcina* sp.

В целом, состав и структура архей биопрепарата «ТОР-органик» свидетельствует не только о доминировании отдельных ОТЕ, но и принадлежности к разным классам и иерархическим уровням в популяции. В связи с этим необходимо понять их специфические функции для почвообразования и физиологическую роль и значимость в ризосферных нишах разных видов растений.

## ПО ТУ СТОРОНУ МЕТАБАРКОДИНГА: ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

**Кабиллов М.Р.\***

*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск*

*\* email: kabilov@niboch.nsc.ru*

NGS метабаркодинг это широко используемый и в некотором смысле уже рутинный подход к оценке биоразнообразия сообществ микроорганизмов и не их только. В его основе лежит ДНК-баркодинг, основанный на использовании специфических генетических маркеров, характерных для определенных таксонов. Так, например, для анализа бактерий используют ген рРНК 16S, для грибов и растений ITS, ген COX для животных и др.

Первым и достаточно трудоёмким являлся этап создания базы последовательностей, т.е. секвенирования выбранного локуса для как можно более широкого спектра отдельных видов. И если для макроорганизмов (животные, растений и др.) трудности могли быть связаны скорее с поиском некоторых видов в живой природе, то для микроорганизмов это в первую очередь связано с проблемой их культивирования, т.к. большинство из них не растет в лабораторных условиях. Тем не менее такие базы были созданы (SILVA, GREENGENES, UNITE и другие), продолжают пополняться и позволили с появлением высокопроизводительного секвенирования перейти к использованию метабаркодинга. Суть последнего состоит том, что в исследуемом образце проводится таксономическая идентификация не отдельных видов, а всех одновременно. Для этого из образца выделяется тотальная ДНК, с которой проводят амплификацию маркера, а полученный ампликон секвенируют на геномном секвенаторе.

Биоинформатический анализ, включающий этапы предварительной обработки прочтений, их кластеризации, удаления химер и прочие, в результате определяет ОТЕ (Операционные Таксономические Единицы), в идеале соответствующие отдельным видам. А описанные выше базы данных маркеров позволяют провести таксономическую идентификацию ОТЕ, что в конечном итоге позволяет восстановить относительную представленность таксонов в биоме образца.

Однако, в использовании метабаркодинга, как и в любом другом методе, есть множество нюансов, без учета которых результаты могут быть искажены. В текущей работе проведена попытка систематизации шагов, необходимых для успешного проведения метабаркодинга, включающих отбор баркодов, использование mock стандартов, удаление химер и другие этапы.

Работа поддержана грантом РФФИ № 19-05-50032.

## МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОМНЫХ И ТРАНСКРИПТОМНЫХ ДАННЫХ НАСЕКОМЫХ СЕМЕЙСТВА SIMULIIDAE И CERATOPOGOIDAE

Каманова Е.П.<sup>1,2\*</sup>, Старчевская М.Е.<sup>1,2</sup>, Антонец Д.В.<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Федеральное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Новосибирск, Кольцово

<sup>2</sup>ООО «Новые Программные Системы»

\*e-mail: kamanovae@gmail.com

Кровососущие насекомые из подотряда Nematocera часто выступают переносчиками многочисленных инфекционных заболеваний, в том числе таких вирусных инфекций как лихорадка Зика и денге, желтая лихорадка. Но на сегодняшний день практически неизученными остаются вирусы, связанные с семействами *Simuliidae* и *Ceratopogonidae*.

Целью работы было изучение доступных геномных и транскриптомных данных на наличие вирусного материала. Из базы данных NCBI SRA были отобраны 8 геномных и 3 транскриптомных образца семейства *Simuliidae* и 8 геномных и 144 транскриптомных образца семейства *Ceratopogonidae*. Образцы были обработаны с помощью оригинального программного конвейера. Более 20% прочтений остались неклассифицированными. Неклассифицированные прочтения и прочтения, ассоциированные с вирусами, были собраны с помощью программы metaSPAdes. Полученные контиги с покрытием не менее 20 и длиной 500 п.н. и более использовали для функционального анализа. Открытые рамки считывания были предсказаны с помощью Prodigal. Полученные аминокислотные последовательности были проанализированы на наличие известных доменов. Часть аннотированных контигов была отнесена предположительно к вирусам, принадлежащим семейству *Baculoviridae*, которые, инфицируют различные группы насекомых. Многие последовательности были отнесены к бактериофагам семейства *Myoviridae* и неклассифицированным дцДНК вирусам. Большое количество контигов все еще не было отнесено ни к одному таксону.

Работа поддержана Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (договор № 075-15-2019-1665).

## МЕТАБАРКОДИНГ СООБЩЕСТВ НИЗШИХ ГРИБОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ВОДОРΟΣЛЯМИ ОЗ. БАЙКАЛ

**Минчева Е.В.<sup>1\*</sup>**, Полякова М.С.<sup>2</sup>, Букин Ю.С.<sup>1</sup>, Кабилов М.Р.<sup>3</sup>, Тупикин А.Е.<sup>3</sup>, Щербаков Д.Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Лимнологический институт СО РАН, Иркутск*

<sup>2</sup>*Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск*

<sup>3</sup>*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск*

\*e-mail: elenakuznetsova01@gmail.com

Изучению разнообразия животного и растительного мира Байкала уделяется достаточно большое внимание. В то время как группа водных микроскопических грибов на сегодняшний день до сих пор остается практически не изученной. Функциональная роль грибов в экосистеме озера также неясна. Разложение растительных остатков в воде происходит в первую очередь за счет грибов. Последнее особенно актуально в свете наблюдающегося в последнее время разрастания в озере Байкал нитчатых водорослей, образующих осенью огромные валы. В этом контексте, уточнение таксономического состава грибов и грибоподобных организмов, ассоциированных с зелеными водорослями, важно для характеристики экологического состояния водоема и поиска эффективных штаммов-биодеструкторов.

Развитие современных молекулярно-генетических методов предоставило возможность наиболее полно и быстро характеризовать таксономическое разнообразие грибов и грибоподобных организмов в водных экосистемах независимо от стадии их жизни. Метагеномный анализ сообществ зеленых водорослей и ассоциированных с ними грибов и грибоподобных организмов из 8 районов озера Байкал (Култук, мыс Толстый, Максимиха, Томпуда, район р. Тья, Зама, падь Сенная и район Байкала напротив оз. Слюдянского) на основе маркера ITS1 продемонстрировал высокое разнообразие водных грибов, которые представлены отделами Ascomycota, Basidiomycota и грибоподобными организмами – Oomycota. Кроме того, идентифицировано большое количество грибов с невыясненным таксономическим статусом. Эта информация крайне полезна для выбора селективных сред для последующего культивирования грибов и грибоподобных организмов. Показана достоверная корреляция между таксономическим составом сообществ водорослей и грибов. Выдвинута гипотеза о том, что между отдельными видами водорослей и грибов существует функциональная связь.

Авторы выражают особую благодарность А.П. Федотову за помощь в сборе материала и ценные рекомендации при анализе полученных результатов. Работа выполнена в рамках проекта № 0279-2022-0010 по теме: «Генетика сообществ байкальских организмов: структура генофонда, стратегии консервации».



## ИССЛЕДОВАНИЕ БИОАЭРОЗОЛЕЙ НА ТЕРРИТОРИИ РФ

Охлопкова О.В.<sup>1</sup>, Маслов А.А.<sup>2,3</sup>, Карташов М.Ю.<sup>1</sup>, Андреева И.С.<sup>1</sup>, Малышев Б.С.<sup>1</sup>, Трегубчак Т.В.<sup>1</sup>, Швалов А.Н.<sup>1</sup>, **Мошкин А.Д.**<sup>1</sup>, Астахова Е.М.<sup>1</sup>, Терновой В.А.<sup>1</sup>, Сафатов А.С.<sup>1</sup>, Белан Б.Д.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> ГНЦ ВБ "Вектор" Роспотребнадзора;

<sup>2</sup> "Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины";

<sup>3</sup> Институт систематики и экологии животных СО РАН;

<sup>4</sup> Институт оптики атмосферы им. В.Е. Зуева СО РАН.

Email: moshkin\_ad@vector.nsc.ru

Аэрозоли в атмосфере в силу многих условий перемешиваются и переносятся на значительные расстояния, в том числе может происходить перенос биоаэрозоля от локальных источников, вследствие чего при пробоотборе могут быть получены образцы содержащие биоматериал из разных регионов.

Целью работы являлось изучение присутствия генетического материала вирусов в пробах атмосферного аэрозоля и оценка разнообразия этого генетического материала.

Анализ биоаэрозолей производился с применением методов NGS секвенирования. Такой подход был использован для обширной характеристики вирусных сообществ, присутствующих в образцах воздуха. В результате идентификации последовательностей была получена информация о широком филогенетическом разнообразии в следующем соотношении: эукариоты – 43117 ридов (более 100 родов), бактерии – 5569 ридов (1196 родов), вирусы – 7979 ридов (домен d\_\_Viruses), бактериофаги – 21212 ридов (878 родов). Общее количество прочитанных фрагментов вирусных частиц из отобранных проб атмосферного аэрозоля – 29191 рид. Были идентифицированы такие вирусы, как: Human mastadenovirus C (HAdV-C), Cercopithecine betaherpesvirus 5 и другие. Также были выявлены фаги, оказывающие негативное влияние на бактериальную составляющую микрофлоры человека: Faecalibacterium\_phage, Lactobacillus\_virus, Sequinquevirus, и другие.

Сравнительная оценка полученных в рамках этой работы данных с данными других групп исследователей показывает, что видовое разнообразие отличается, при этом некоторые представители, относящиеся к разным видам, объединены в одно семейство. Связано это явление может быть с геолокацией полетов и методами забора материала более детальное изучение требует дальнейших исследований и увеличения количества исследуемых проб.



## БАКТЕРИОБИОМ В КОРНЯХ РАСТЕНИЙ ТОМАТА ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ В ОТКРЫТОМ ГРУНТЕ

Наумова Н.Б.<sup>1\*</sup>, Батурина О.А.<sup>2</sup>, Тупикин А.Е.<sup>2</sup>, Аликина Т.Ю.<sup>2</sup>, Кабилов М.Р.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт почвоведения и агрохимии СО РАН, Новосибирск, Россия

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

\*e-mail: [naumova@issa-siberia.ru](mailto:naumova@issa-siberia.ru)

Оценка состава и структуры фитобиома сельскохозяйственных культур актуальна для безопасности товарной продукции и окружающей среды. Необходимость лабораторного культивирования существенно сдерживала развитие исследований в этом направлении, но высокопроизводительного секвенирования резко стимулировало исследования фитобиома. С целью оценки биоразнообразия бактериобиома из корней растений томата, выращенных в открытом грунте на юге Западной Сибири на агросерой почве с внесением минерального удобрения (МУ) и без (БУ), экстрагировали ДНК, использовали ее для амплификации V3/V4 районов генов 16S рРНК, и ампликоны секвенировали в ЦКП «Геномика» ИХБФМ СО РАН. Полученные с помощью UPARSE [1] ОТЕ бактерий были классифицированы по базе 16S RDP v.16 [2]. Бактерии (206 ОТЕ, в среднем 84 на образец) относились к 6 типам: *Proteobacteria* и *Actinobacteria* были абсолютными доминантами (вместе >90% обилия ридов). На уровне рода по обилию лидировал патоген томатов *Clavibacter* с 36% в варианте БУ и 24% - в МУ. Пониженное обилие этого рода при внесении МУ сопровождалось улучшенным ростом и товарной продукцией растений при меньшей частоте проявления заболевания. Применение МУ повысило обилие положительно влияющих на растения бактерий рода *Sphingomonas* (17 vs. 11%), но привело и к повышению обилия оппортунистических патогенов рода *Rhizobium* (6 vs. 3%) и *Chryseobacterium* (3,6 vs. 1,3%) в корнях варианта МУ. Совокупность индексов  $\alpha$ -биоразнообразия указывала на более разнообразный и выравненный бактериобиом корней растений при МУ. Таким образом, применение минеральных удобрений, оказывая ожидаемое стимулирующее влияние на рост и развитие сельскохозяйственных культур, может положительно влиять на фитобиом. Поиск схем удобрения с целью направленной модификации фитобиома может быть перспективным направлением исследований.

Исследование проведено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект № 121031700309-1).

1. R.C. Edgar (2013) UPARSE: Highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads, *Nat. Meth.* **10**: 996–998.

2. Q. Wang, G.M. Garrity, J.M. Tiedje, J.R. Cole (2007) Naïve Bayesian Classifier for Rapid Assignment of rRNA Sequences into the New Bacterial Taxonomy, *App Environ Microbiol.* **73**: 5261–5267.

## МИКОБИОМ В КОРНЯХ РАСТЕНИЙ ТОМАТА ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ В ОТКРЫТОМ ГРУНТЕ

Наумова Н.Б.<sup>1\*</sup>, Батурина О.А.<sup>2</sup>, Тупикин А.Е.<sup>2</sup>, Аликина Т.Ю.<sup>2</sup>, Кабилов М.Р.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт почвоведения и агрохимии СО РАН, Новосибирск, Россия

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

\*e-mail: [naumova@issa-siberia.ru](mailto:naumova@issa-siberia.ru)

Грибы, вызывающие болезни растений, широко распространены в окружающей среде; грибные сообщества существуют и внутри растений. Состав и структура таких сообществ, несмотря на доступность методов высокопроизводительного секвенирования, изучены мало. С целью оценки биоразнообразия микобиома из корней растений томата, выращенных в открытом грунте на юге Западной Сибири на агросерой почве с внесением минерального удобрения (МУ) и без (БУ), экстрагировали ДНК, использовали ее для амплификации ITS2 районов, и ампликоны секвенировали в ЦКП «Геномика» (ИХБФМ СО РАН). Полученные с помощью UPARSE [1] ОТЕ грибов классифицировали по базе UNITE v.8.2 [2]. Из 387 ОТЕ (в среднем 157 на образец) подавляющее большинство представляли *Ascomycota* (60%) и *Basidiomycota* (39%), которые были абсолютными доминантами (вместе почти 100% обилия родов). На уровне рода по обилию лидировал *Alternaria* с 17% в варианте БУ и 21% - в МУ. В видовом и эколого-физиологическом плане этот род разнообразен, будучи представлен и сапрофитами и патогенами, поэтому его заметное присутствие трудно экофизиологически интерпретировать. При МУ снизилось с 14 до 7% обилие *Cryptococcus* – распространённого патогена растений, животных и человека. Статистически значимой разницы ( $P \leq 0,05$ ) между вариантами удобрения по структуре и  $\alpha$ -биоразнообразию микобиома корней не было выявлено из-за большого варьирования в варианте БУ. Это первое в нашей стране метагеномное исследование грибного ансамбля выявило его большое биоразнообразие (с заметным присутствием потенциальных патогенов) в корнях томата, Закономерности формирования микобиома растений необходимо детально изучать с целью выявления взаимосвязи между его биоразнообразием и проявлением заболеваний сельскохозяйственных растений.

Исследование было поддержано ФПР генетических технологий (проект № 075-15-2021-1085).

1. R.C. Edgar (2013) UPARSE: Highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads, *Nat. Meth.* **10**: 996–998.

2. K. Abarenkov, A. Zirk, T. Piirmann, R.Pöhönen, F.Ivanov, R.H.Nilsson, U. Kõljalg (2020) UNITE USEARCH/UTAX release for Fungi Version 04.02.2020. UNITE Community. Available online: URL <https://doi.org/10.1515/BIO/786375> (accessed on 12 April 2022).

## МИКРОБИОМ АЭРОЗОЛЕЙ ПРИЗЕМНОГО И НИЖНЕГО СЛОЕВ ТРОПОСФЕРЫ

Наумова Н.Б.<sup>1,2</sup>, Батурина О.А.<sup>1</sup>, Тупикин А.Е.<sup>1</sup>, Аликина Т.Ю.<sup>1</sup>, Андреева И.С.<sup>3</sup>,  
Олькин С.Е.<sup>3</sup>, Сафатов А.С.<sup>3</sup>, Козлов А.С.<sup>4</sup>, Белан Б.Д.<sup>5</sup>, Фофонов А.В.<sup>5</sup>, Кабилов М.Р.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

<sup>2</sup>Институт почвоведения и агрохимии СО РАН, Новосибирск

<sup>3</sup>ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская обл.

<sup>4</sup>Институт химической кинетики и горения СО РАН, Новосибирск

<sup>5</sup>Институт оптики атмосферы СО РАН, Томск

\*e-mail: kabilov@niboch.nsc.ru

Низкая концентрация микробов и необходимость лабораторного культивирования не позволяли адекватно оценивать биоразнообразие микробиоты аэрозолей вплоть до появления высокопроизводительного секвенирования. С целью оценки биоразнообразия микробиома из образцов биоаэрозоля, собранных в 2020 г. из (1) нижнего слоя тропосферы, НТ, над поверхностью арктических морей России, и (2) приземного слоя тропосферы, ПТ, над лесостепной зоной юга Западной Сибири, экстрагировали ДНК, которую использовали для амплификации V3-V4 районов генов 16S рРНК и ITS2 районов, и ампликоны секвенировали в ЦКП «Геномика» (ИХБФМ СО РАН). Полученные с помощью UPARSE OTE были классифицированы с помощью баз ITS UNITE v.8.2 в случае грибов и 16S RDP v.16 в случае бактерий. Из 4099 OTE грибов 2220 были *Basidiomycota* и 1821 OTE – *Ascomycota*; оба типа совместно составили 99% обилия ридов. В НТ обилие класса *Dothideomycetes* превышало обилие класса *Agaricomycetes* (62 vs. 16%). Заметное доминирование *Davidiella* и *Alternaria* (оба рода из *Dothideomycetes/Ascomycota*) в НТ vs. ПТ говорит о наличии у них более эффективных механизмов поддержания жизнеспособности в воздухе над северными морями, хотя конкретные пути достижения этого пока непонятны. Выявленные 3410 OTE бактерий относились к 28 типам и 62 классам: типы *Proteobacteria* и *Actinobacteria* были абсолютными доминантами в ПТ и НТ, вместе составляя >50% обилия ридов, а лидеры на уровне рода (*Diaphorobacter* и *Cloacibacterium*) определяли 20% обилия. Более низкое разнообразие микробиоты в воздухе более высоких широт и слоев тропосферы говорит о разных источниках и более суровых экологических условиях. Это первая метагеномная оценка разнообразия микробиома в образцах тропосферы, собранных над территорией России. Результаты будут являться основой для будущих исследований по анализу источников микробиоты и механизмов ее выживания в воздухе, с учетом особенностей наблюдаемого биоразнообразия.

Исследование было проведено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 2019-05-50032).

## МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ ПОВЕРХНОСТНЫХ ВОД ИЗ ПРИБРЕЖНЫХ АКВАТОРИЙ ПРИМОРСКОГО КРАЯ

Дункай Т.И.<sup>1,2</sup>, Богатыренко Е.А.<sup>1\*</sup>, Ким А.В.<sup>1,3</sup>, Писарева Е.О.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Дальневосточный федеральный университет, Владивосток

<sup>2</sup>Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток

<sup>3</sup>ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН, Владивосток

\*e-mail: bogatyrenko.ea@dvfu.ru

В настоящее время микробное разнообразие акваторий Японского моря изучено лишь с помощью традиционных микробиологических методов, которые могут дать представление только о культивируемых формах бактерий и их отдельных свойствах. В связи с этим целью работы стало исследование состава бактериальных сообществ поверхностных вод прибрежных акваторий Приморского края России с помощью метагеномного анализа.

В качестве районов исследования были выбраны 8 акваторий Приморского края с разной степенью антропогенной нагрузки. Отбор проб осуществлялся в августе-сентябре 2016–2019 гг. ДНК из образцов выделяли с помощью набора «НК-сорбент» комплектации «Base» (ЛИТЕХ, Россия). Регион V3-V4 гена 16S рРНК был амплифицирован с помощью праймеров 343F (5'-CTCCTACGRRSGCAGCAG-3') и 806R (5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3'), содержащих адаптерные последовательности (Illumina), линкер и баркод. Полученные образцы отправляли в ЦКП «Геномика» СО РАН (ИХБФМ СО РАН), г. Новосибирск для секвенирования на платформе MiSeq (Illumina). Контроль качества и редактирование прочтений проводили с использованием пакета R ShortRead (<https://bioconductor.org>). Обработку метагеномных данных проводили в программе Mothur v.1.40.5 (<https://www.mothur.org>). Полученные в ходе метагеномного анализа последовательности были идентифицированы с помощью сравнения с данными, зарегистрированными в базе SILVA (<https://www.arb-silva.de>), при этом поддержка составила не менее 80%. Статистические расчеты и построение графиков проводилось с помощью среды программирования R (<https://www.r-studio.com>), пакетов Vegan, ShortRead, gplots, ape.

В бактериальных сообществах доминировали три филума – Proteobacteria (50,3-64%), Bacteroidetes (20-36%) и Actinobacteria (0,6-8,9%). Остальные филумы были представлены в различном соотношении и составляли не более 5%: Verrucomicrobia (0,22–3,83%), Firmicutes (0,44–4,26%), Epsilonbacteraeota (0,32–4,65%) и Patescibacteria (0,82–5%). Представители филумов Cyanobacteria, Fusobacteria, Chloroflexi, Spirochaetes встречались гораздо реже других филумов, и каждый из них был представлен менее 2% от общего количества последовательностей.

## МЕТАГЕНОМИКА БАКТЕРИАЛЬНЫХ СООБЩЕСТВ КОЛОРАДСКОГО ЖУКА: ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИЙ НА РАЗВИТИЕ ПАТОГЕНЕЗОВ И ТОКСИКОЗОВ

Поленогова О.В.<sup>1\*</sup>, Ярославцева О.Н., Клементьева Т.Н.<sup>1</sup>, Аликина Т, Кабилов М.Р.<sup>2</sup>,  
В. Ю. Крюков<sup>1</sup>, В. В. Глупов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск

<sup>2</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

\*e-mail: ovp0408@yandex.ru

Бактериальное сообщество насекомых может играть важную роль в их восприимчивости к инфекциям и инсектицидам. Целью работы было установление структуры бактериальных сообществ кишечника колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* (Say) и определение влияния бактериальных ассоциантов на восприимчивость к энтомопатогенам и инсектицидам. Анализ сообщества бактерий кишечника на основе высокопроизводительного секвенирования региона 16S rRNA показал, что основу микробиома составляют энтеробактерии, спороплазмы, лактококки. Наиболее высокое обилие и разнообразие было характерно для энтеробактерий. Инфекции и обработки инсектицидами приводили к значимым сдвигам в структуре сообществ кишечника, связанные преимущественно с повышением обилия энтеробактерий, реже лактококков. Мы оценили влияние культивируемых энтеробактерий на восприимчивость *L. decemlineata* к энтомопатогенным бактериям *Bacillus thuringiensis*, грибам *Beauveria bassiana* и инсектицидам на основе авермектинов. Мы выяснили, что подавление энтеробактерий антибиотиками приводит к снижению восприимчивости насекомых к энтомопатогенным грибам, бактериям *B. thuringiensis* и авермектинам. Ре-интродукция определенных энтеробактерий в кишечник, повышала восприимчивость личинок к *B. thuringiensis*, авермектинам, но не к энтомопатогенным грибам. Полученные результаты, взятые вместе, свидетельствуют о том, что энтеробактерии могут ускорять развитие патогенезов и токсикозов у *L. decemlineata*.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ № 20-74-10043 и № 19-76-00032.

## МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ТЕХНОГЕННО НАРУШЕННЫХ ПОЧВ

Серазетдинова Ю.Р.<sup>1\*</sup>, Фотина Н.В.<sup>1</sup>, Асякина Л.К.<sup>1</sup>, Осинцева М.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Кемеровский государственный университет, Кемерово

\*e-mail: serazetdinova2000@mail.ru

Антропогенная деятельность, в особенности добыча полезных ископаемых, приводит к обширному загрязнению почвы тяжелыми металлами. Большинство из них, например, Hg, Pb, Cr, Cd, а также некоторые другие металлы (Ni, Cu) и полуметаллы (As) не обладают биохимическими функциями в организме и, попадая в него в значительных концентрациях, оказывают токсическое действие.

Очистить почву от поллютантов можно с помощью биологических методов, являющихся эффективными, недорогими, а также экологически безопасными. Накопление тяжелых металлов в почве значительно изменяет численность и метаболизм микробных сообществ. Под воздействием агрессивной среды они могут приобретать различные полезные для ремедиации свойства, например, способность переводить тяжелые металлы в менее токсичные формы. Исследования в области метагеномики позволяют получить подробные данные о составе микробиомов нарушенных почв, а также выявить и охарактеризовать микробные виды, способные разлагать конкретные виды загрязнителей.

Целью данной работы являлось изучение таксономического разнообразия техногенно нарушенных почв, отобранных с поверхностного слоя отвалов ОАО «Моховский угольный разрез» и ООО «Разрез «Корчаковский».

Микробиоту отвалов исследовали с помощью секвенирования гена 16S на геномном секвенаторе MiSeq, центра коллективного пользования «Геномика» СО РАН.

Согласно результатам исследования бактериальное сообщество отвалов представлено в основном *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Firmicute*, *Bacteroidete*, *Gemmatimonadetes*, а также бактериями неустановленного типа. При этом одним из наиболее многочисленных отделов (более 1 % от общего числа), являлся отдел *Cyanobacteria*, обнаруженный в почвах Моховского отвала и отсутствующий в почвах Корчаковского.

*Actinobacteria* – доминантный отдел на исследованных участках. Его численность составляет от 43,1 % (Моховский отвал) до 58,9 % (Корчаковский отвал) от общего содержания. Данный отдел представлен такими порядками, как *Micrococcales*, а также двумя неклассифицированными представителями. Среди отряда *Proteobacteria* наиболее распространены порядки *Sphingomonadales*, *Rhizobiales* и *Micrococcales*. Представители последних двух являются перспективными для восстановления растительного покрова на нарушенных территориях, а также способствуют снижению токсичности металлов. Согласно литературным данным *Sphingomonas* порядка *Sphingomonadales*, также обнаруженный на исследованных участках, способствует снижению токсичности четырехвалентного хрома, а также биодеградаци ПАУ.

Таким образом, микроорганизмы, обнаруженные в почвах Моховского и Корчаковского отвалов, обладают потенциалом к деградации различного рода поллютантов, и являются перспективными объектами для дальнейшего изучения.

Работа выполнена в рамках ГЗ по теме «Разработка подходов к фиторемедиации посттехногенных ландшафтов с использованием стимулирующих рост растений ризобактерий (PGPB) и «омиксных» технологий», дополнительное соглашение № 075-03-2021-189/4 от 30.09.2021 (внутренний номер 075-ГЗ/Х4140/679/4).

## МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ВИРОМА LEPTINOTARSA DECEMLINEATA

Старчевская М.Е.<sup>1,2</sup>, Каманова Е.П.<sup>1,2</sup>, Вяткин Ю.В.<sup>2</sup>, Трегубчак Т.В.<sup>1</sup>, Бауэр Т.В.<sup>1</sup>,  
Роцкая У.Н.<sup>3</sup>, Косман Е.С.<sup>3</sup>, Антонен Д.В.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Федеральное бюджетное учреждение науки Государственный научный центр вирусологии  
и биотехнологии «Вектор», Новосибирск, Кольцово

<sup>2</sup>ООО «Новые Программные Системы», Новосибирск

<sup>3</sup>Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт систематики и  
экологии животных Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск

\*e-mail: starchevskayamaria@mail.ru

Колорадский жук (*Leptinotarsa decemlineata*) является одним из самых серьезных сельскохозяйственных вредителей. В настоящее время вирусы, поражающие колорадского жука, изучены недостаточно. Такие исследования могут стать основой для разработки новых биологических средств контроля.

Из базы данных NCBI SRA были отобраны 296 геномных и транскриптомных образцов *L. decemlineata* и проанализированы на наличие вирусных последовательностей. Был реализован программный конвейер, позволяющих обрабатывать данные NGS секвенирования, осуществлять сборку метагенома, проводить таксономическую классификацию прочтений и контигов. Среди идентифицированных вирусных семейств наибольшее количество было отнесено к семействам *Baculoviridae*, *Iridoviridae*, *Polydnoviridae*, *Iflaviridae*, *Mimiviridae*, *Pandoraviridae*, *Phycodnaviridae* и *Poxviridae*. Также были собраны полноразмерные геномные последовательности нескольких вирусов растений: вируса S картофеля и вируса Y картофеля, вируса виноградной лозы. Наибольшее количество вирусных фрагментов обнаружено в тканях кишечника.

При изучении референсного генома колорадского жука в его составе были выявлены многочисленные длинные фрагменты последовательностей представителей рода *Braconvirus*. Присутствие браковирусных фрагментов в геноме *L. decemlineata* было подтверждено экспериментально с помощью ПЦР и секвенирования по Сэнгеру с использованием генетического материала, выделенного из яиц, полученными нашими коллегами из ИСиЭЖ СО РАН.

Работа поддержана Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (договор № 075-15-2019-1665).



## МЕТАГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ ГОРЯЧИХ ИСТОЧНИКОВ КАРМАДОНСКОГО УЩЕЛЬЯ, СЕВЕРНАЯ ОСЕТИЯ.

**Тощакон С.В.**<sup>1\*</sup>, Виноградова Е.Н.<sup>1,2</sup>, Изотова А.О.<sup>1</sup>, Корженков А.А.<sup>1</sup>, Качмазов Г.С.<sup>3</sup>, Патрушев М.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Курчатонский геномный центр, НИЦ «Курчатонский институт», Москва

<sup>2</sup>Биологический факультет, МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва

<sup>3</sup>Северо-Осетинский Государственный Университет им. К.Л.Хетагурова

\*e-mail: [stepan.toshchakov@gmail.com](mailto:stepan.toshchakov@gmail.com)

Геотермальные местообитания республики Северная Осетия-Алания, расположенной в южной части Северного Кавказа, включают как подземные геотермальные резервуары, так и наземные горячие источники. В то же время микробиологические исследования местообитаний Северо-Кавказского региона весьма немногочисленны и опираются на классические методы микробиологии. В данной работе методами метабаркодирования и *shotgun*-метагеномики проанализированы микробные сообщества Верхне-Кармадонских горячих источников, расположенных в 6 км к северо-западу от вершины горы Казбек на высоте 2300 м. Верхне-Кармадонское геотермальное поле имеет более 50 выходов термальных вод с температурой в диапазоне 40-55°C [1]. Элементный анализ воды подтвердил предыдущие наблюдения о высоком уровне минерализации в водах Кармадона - вода значительно обогащена натрием, бором, кремнием, калием, железом, марганцем, стронцием и многочисленными редкими элементами.

Метагеномный анализ показал присутствие значительного количества некультивируемых микроорганизмов и новых таксонов. В частности, была получена высококачественная метагеномная корзина некультивируемой бактерии филума Firmicutes. Поиск последовательности гена 16S рРНК в базе NCBI не выявил близкородственных микроорганизмов, что свидетельствует о новизне и потенциальном эндемизме данного таксона. Филогенетический анализ с использованием подходов полногеномной таксономии показал, что данный микроорганизм характеризуется показателем относительного эволюционного расхождения генома (Relative Evolutionary Divergence, RED Value) равным 0.469, что соответствует новому классу [2].

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об уникальности микробных сообществ Северного Кавказа и их высоком кодирующем потенциале.

Работа финансировалась Министерством высшего образования и науки РФ (соглашение № 075-15-2019-1659 на развитие Курчатонского центра геномных исследований).

1. Дзгоев У.С. (1961) Курорт Кармадон. Северо-Осетинское книжное издательство.

2. Parks D.H. et al. (2022) GTDB: an ongoing census of bacterial and archaeal diversity through a phylogenetically consistent, rank normalized and complete genome-based taxonomy, *Nucleic Acids Research*, **50**(D1):D785-D794.



## ВЗАИМОСВЯЗЬ СТРУКТУРЫ МИКРОБИОМА ПОЧВ КАРТОФЕЛЬНЫХ ПОЛЕЙ С УРОВНЕМ ФУНГИСТАЗИСА

Ярославцева О.Н.<sup>1\*</sup>, Черткова Е.А.<sup>1</sup>, Кривопапов А.В.<sup>1</sup>, Аликина Т.Ю.<sup>2</sup>,  
Поленогова О.В.<sup>1</sup>, Кабилов М.Р.<sup>2</sup>, Крюков В.Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск

<sup>2</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

\*e-mail: yarosl@inbox.ru

Уровень фунгистазиса почв зависит от их микробного сообщества. Фунгистазис проявляется по отношению к разным группам грибов, в том числе энтомопатогенным и эндофитным видам р. *Beauveria* и *Metarhizium*. Предполагается, что уровень фунгистазиса может оказывать влияние на вирулентность указанных грибов и способность колонизировать растения. Целью работы являлось изучение бактериальных сообществ почв картофельных полей юга Западной Сибири методом высокопроизводительного секвенирования 16S rRNA (Miseq, Illumina) и оценка связей между структурой сообществ бактерий и уровнем фунгистазиса по отношению к *Beauveria* и *Metarhizium*.

Нами показано высокое разнообразие бактериальных сообществ почв картофельных полей, включающее 6866 OTUs, относящихся к 87 классам и 32 филумам с преобладанием ацидобактерий, актинобактерий, протеобактерий и фирмикут. Почвы с низким уровнем фунгистазиса характеризовались пониженными индексами доминирования (Симпсон 1-D и Бергер-Паркер 1-D), тогда как индексы видового богатства (Chao1 и др.) не были ассоциированы с фунгистатичностью. Почвы с высоким уровнем фунгистазиса имели более высокое обилие Bacilli (Firmicutes). Также в высоко-фунгистатичных почвах регистрировалась другая структура сообществ актинобактерий, в частности более высокое обилие *Streptomyces*.

Эксперименты *in vitro* показали высокую антагонистическую активность культивируемых бацилл *Bacillus frigiditolerans*, *Bacillus mobilis* и *B. subtilis* по отношению к грибам *Metarhizium* и *Beauveria*. Однако добавление бацилл в стерильные почвы не приводило к изменению вирулентности грибов по отношению к колорадскому жуку. Таким образом, мы предполагаем что высокий уровень фунгистазиса почв обусловлен прежде всего высоким обилием Bacilli, однако нами не установлено влияния отдельных бактерий на вирулентность грибов.

Работа была поддержана грантом РФФ № 20-74-10043.

## TRILATERAL RELATIONSHIP: FOOD-BORNE TREMATODES, MICROBIOTA, AND EXPERIMENTAL HOST

**Pakharukova M.Y.**<sup>1,2\*</sup>, Lishai E.A.<sup>1,2</sup>, Zaparina O.<sup>1</sup>, Baginskaya N.V., Mordvinov V.A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk,*

<sup>2</sup> *Department of Natural Sciences, Novosibirsk State University, Novosibirsk;*

\*e-mail: pmaria@yandex.ru,

*Background:* Three epidemiologically significant food-borne trematodes (*Opisthorchis felineus*, *O. viverrini*, *Clonorchis sinensis*) have some similarities and differences. The definitive host are fish-eating mammals including humans. The flukes affect the hepatobiliary system inducing cholangitis, and bile duct neoplasia, and even cholangiocarcinoma among chronically infected individuals. Differences primarily concern the geographical range and main foci, where they are endemic to, and the carcinogenic potential to human. Two species, *O. viverrini* and *C. sinensis* are both recognized 1A group of biological carcinogens to human, whereas *O. felineus* is recognized to be potentially carcinogenic to animals. The mechanisms of carcinogenesis by the liver flukes are studied fragmentarily, the role of host and parasite microbiome is an unexplored aspect.

*Methods and Algorithms:* In order to characterize the microbial communities in adult parasites as well as in host bile and colon, the hamsters were infected with metacercariae of *C. sinensis* (South Korea), *O. viverrini* (Thailand) and *O. felineus* (Russia). We performed high-throughput sequencing (MiSeq, Illumina) of libraries constructed from V3 – V4 region of 16S ribosomal DNA isolated from adult worms and from colon faeces and bile from the hamsters. Furthermore, *ureA* and *cagA* genes of *Helicobacter pylori* were assessed by the real-time PCR method in the stomach, feces and bile of hamsters.

*Results:* As a result, 1,784,000 reads were assigned to 13,244 operational taxonomy units (OTUs) and, in turn, to 273 genera of Bacteria. Analysis revealed the significant phylogenetic diversity of the microbial communities among three liver flukes. Numerous bacterial species were identified in the bile of the infected animals, in particular, bile contains the same bacterial phyla as worms do. Prevalence of *H. pylori* and *ureA* gene copy number was significantly higher in the liver fluke-infected hamsters than in the uninfected ones.

*Conclusion:* The infection with any liver fluke significantly modified the bile and faecal microbiome, increasing the abundance of *H. pylori*. Mechanisms of host microbiome modification by the liver flukes are discussed.

*Acknowledgements:* This work was supported by the Russian Science Foundation [22-24-20010].

## THE IMPACT OF CFTR MODULATOR THERAPY ON THE RESTORATION OF THE NORMAL LUNG MICROBIOME

Voronina O.L.<sup>1\*</sup>, Ryzhova N.N.<sup>1</sup>, Aksenova E.I.<sup>1</sup>, Kunda M.S.<sup>1</sup>, Amelina E.L.<sup>2</sup>, Gintsburg A.L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*N.F. Gamaleya National Research Center for Epidemiology and Microbiology, Moscow.*

<sup>2</sup>*Pulmonology Research Institute under FMBA of Russia, Moscow.*

\**e-mail: olv550@gmail.com*

The changes in airway microbiota of cystic fibrosis (CF) patients are diverse, reflecting many factors such as the patient age, severity of the disease, changes in treatment programs and the extent and reversibility of airway damage. New therapy with CFTR modulators helps to improve lung drainage and may contribute to the eradication of pathogens. However, the impact of CFTR modulators on lung microbiome is individual. The modulator type may also affect the efficiency of microbiota recovery. The aim of our study was to evaluate the effects of four licensed CFTR modulators on the lung microbiome of CF patients chronically infected with *Pseudomonadota* for a long time, often associated with non-tuberculous mycobacteria infection.

The lung microbiome composition was determined by massively parallel sequencing of the 16S rDNA gene amplicons with the Illumina platform. The data were processed with the Microbial Genomics module of the CLC Genomic Workbench v.21 software, which allowed evaluating the OTU abundance, alpha- and beta-diversity, and conducting PERMANOVA. The OTU abundance analysis was performed using the Greengenes v.13\_8 database with 97% similarity. The PCoA was used to assess the microbiota similarity in the samples.

The sputum samples of 15 CF patients, 19-40 years old, taking one of the four drugs: Kalydeco, Orkambi, Symdeco, and Trikafta, were analyzed. The follow-up period ranged from 4 months to 4,5 years. The eradication of the *Pseudomonadota* depended on the age of the infection. For patients infected since childhood, and having a high bacterial load of *Pseudomonadota* associated with non-tuberculous *Mycobacteria* infection, a significant effect was reached after 3 years of CFTR modulator treatment. In the case of the patients who had received long-term antimycobacterial therapy the effect was observed earlier even with the use of Kalydeco. In most patients, a draining effect led to an increase in the level of the main pathogen in the sputum after the start of CFTR modulators therapy. In general, the use of corrector + potentiator combination showed the most pronounced effect on the microbiota of the lungs. Trikafta was the most effective treatment regarding the restoration bacterial diversity, and Kalydeco was the least effective. Consequently, early initiation of modulatory therapy will help preserve the lung microbiota of CF patients.

ПОИСК ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО ЭКСПРЕССИРУЮЩИХСЯ ГЕНОВ,  
АССОЦИИРОВАННЫХ С ГИБРИДНОЙ СТЕРИЛЬНОСТЬЮ У ПОЛЕВОК  
*MICROTUS ROSSIAEMERIDIONALIS* И *MICROTUS MYSTACINUS*

**Бикчурин Т.И.**<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Новосибирский государственный университет, Новосибирск

<sup>2</sup>Федеральный исследовательский центр институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

\*e-mail: antanimka@gmail.com

На ранних стадиях видообразования увеличение генетической дивергенции может приводить к формированию репродуктивной изоляции, одним из ключевых механизмов которой у млекопитающих является гибридная стерильность. Близкородственные виды *Microtus rossiaemeridionalis* и *M. mystacinus* (Rodentia; Arvicolinae) характеризуются малым временем дивергенции (менее 0.3 млн лет), что делает их удобной моделью для изучения начальных этапов формирования гибридной стерильности. Для выяснения генетических механизмов формирования гибридной стерильности между видами рода *Microtus* мы провели секвенирование транскриптома семенников половозрелых гибридов обоих направлений скрещивания, представители родительских видов были использованы в качестве контроля, с последующим поиском дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ), ассоциированных с гибридной стерильностью. Был проведен гистологический и цитологический анализ особенностей сперматогенеза самцов межвидовых гибридов, а также родительских видов.

Сборка *de novo*, улучшение качества сборки, аннотация, квантификация, последующий анализ данных и функциональная аннотация проводились с помощью программного обеспечения Trinity, cd-hit, Transrate, Transdecoder, blast, kallisto, онлайн-ресурсов iDEP.95 и ShinyGO.

Впервые был собран *de novo* транскриптом данных видов полевок. Мы выделили ДЭГи, связанных со стерильным фенотипом, из них 6,6% представляло различия между гибридами разных направлений, что хорошо согласуется с данными гистологического анализа. После интеграции данных гистологического и цитогенетического анализа был составлен список генов, связанных с функциональными путями “spermatogenesis” и “spermatid development”, ассоциированных со стерильностью самцов ♀*M. rossiaemeridionalis* x ♂*M. mystacinus*. Таким образом, мы выявили гены-кандидаты, нарушение регуляции которых вносит вклад в формирование гибридной стерильности.

Данная работа была выполнена при поддержке грантов Министерства науки и Высшего образования РФ гранты #0259-2021-0011 и #2019-0546 (FSUS-2020-0040).

## ГЕНОМНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ 5S рРНК ГЕНОВ У ПОЗВОНОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Демин А.Г., Давидьян А.Г.\*, Галкина С.А., Гагинская Е.Р.

Санкт-Петербургский государственный университет

\*e-mail: svetana.galkina@spbu.ru

В большинстве эукариотических геномов тандемно повторяющиеся копии генов 5S рибосомной РНК (рРНК) располагаются вне области ядрышкового организатора (ЯОР), кодирующего 18S, 5,8S и 28S рРНК. Ранее мы показали, что в геномах черепах (Testudines) и крокодилов (Crocodylia), наряду с каноническими кластерами 5S рДНК, в межгенных спейсерах ЯОР (IGS) присутствуют дополнительные копии генов 5S рДНК (гены NOR-5S) в антисмысловой ориентации [1]. Ген NOR-5S рРНК у рептилий имеет длину 119 п.н., его нуклеотидная последовательность отличается на 20% от канонического гена. Несмотря на эту разницу, внутренние контрольные области для РНК-полимеразы III у двух типов генов сходны. Гены NOR-5S рРНК специфически экспрессируются в растущих ооцитах одновременно с амплификацией ЯОР. При этом в вителлогенных ооцитах NOR-5S рРНК преобладает над канонической 5S рРНК в рибосомах, что указывает на роль модифицированных рибосом в ооцит-специфической трансляции.

Целью данной работы был поиск последовательностей неканонических генов 5S рРНК у других представителей позвоночных. Поиск проводили с использованием алгоритма BLAST в аннотированных и неаннотированных данных полногеномного секвенирования (WGS и Genome, NCBI), а также в архивах сырых ридов PacBio и Oxford Nanopore (SRA, NCBI). Анализ сходства обнаруженных 5S рРНК генов выполняли в пакете программ Geneious.

Скрининг секвенированных геномов позвоночных животных выявил дополнительные гены NOR-5S рРНК у автохтонных антарктических лучепёрых рыб, представителей семейства Нототениевых (сем. Nototheniidae, отр. Perciformes): клыккачей *Dissostichus eleginoides* и *D. mawsoni*, трематомы Лённберга *Pseudotrematomus loennbergii* и ледяной рыбы Майера *Chionodraco myersi*. Ген NOR-5S рРНК в составе IGS находится в антисмысловой ориентации и отличается от последовательности канонического гена 5S рРНК двумя нуклеотидными заменами. Как и у черепах, ген NOR-5S рРНК в IGS Нототениевых заметно смещен к гену 28S рРНК, с 5'-конца фланкирован повторами, а с 3'-конца – уникальной последовательностью, отличной от спейсерной последовательности кластера канонических генов 5S рРНК. Как и в случае черепах и крокодилов, возникновение дополнительных генов 5S рРНК в составе рибосомного повтора у Нототениевых, по-видимому, необходимо для решения проблемы дисбаланаса между количеством транскрибируемых генов 18S, 5,8S, 28S рРНК и 5S рРНК, на что указывают данные сравнительного анализа транскриптомов гонад и соматических тканей *D. eleginoides*. Обусловлен ли у рыб этот феномен амплификацией рибосомных генов и образованием экстрахромосомных ядрышек в растущих ооцитах пока не ясно. Совсем иной вариант организации генов 5S рРНК обнаружен нами в геноме зебровой амадины *Taeniopygia guttata* – певчей птицы сем. Estrildidae, отр. Passeriformes. Дополнительные кластеры генов 5S рРНК выявлены на хромосомах 2 (TGU1) и 4 (TGU4), нуклеотидные последовательности в основном и дополнительных кластерах сходны на 93%. Выявленные различия в нуклеотидной последовательности не приводят к изменению вторичной структуры рРНК. Сосуществование разных генов 5S рРНК может указывать на наличие в клетке рибосом разной специализации.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФ № 22-24-00538

## СЕКВЕНИРОВАНИЕ ПОЛНЫХ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ГЕНОМОВ БЕЛУГ ИЗ АРХЕОЛОГИЧЕСКИХ РАСКОПОК ПОВОЛЖЬЯ

Давлетшина Г.И.<sup>1,2\*</sup>, Молодцова А.С.<sup>1</sup>, Воробьева Н.В.<sup>1</sup>, Аськеев И.В.<sup>3</sup>,

Аськеев О.В.<sup>3</sup>, Аськеев А.О.<sup>3</sup>, Шаймуратова Д.Н.<sup>3</sup>, Трифонов В.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск

<sup>2</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

<sup>3</sup>Институт проблем экологии и недропользования, Казань

\*e-mail: guzel@mcb.nsc.ru

Осетрообразные (Acipenseriformes) это подкласс рыб, имеющих базальное филогенетическое происхождение среди лучеперых рыб. Все современные виды осетрообразных являются палеополиплоидами с различным уровнем пloidности. Самым крупным и одним из самых уязвимых видов атлантической клады осетровых является белуга (*Huso huso*). Несмотря на большую ценность данного вида, наше представление о микроэволюции данного вида очень скудные ввиду сильного сокращения численности и трудности добычи материала. Исследование древних образцов ДНК белуги из археологических памятников Поволжья с VII по XVIII века нашей эры имеет фундаментальное значение для изучения демографической истории белуг волжского бассейна.

В ходе археозоологических исследований 30 археологических памятников в Поволжье была собрана уникальная коллекция из 35 костей древней белуги VII-XVIII веков. Мы выделили ДНК из 33 образцов, провели обогащение ДНК митогенома и секвенировали на платформе Illumina. У 15 секвенированных образцов покрытие митохондриального генома было равно 50% или более. С помощью молекулярно-генетического анализа мы выявили 85 переменных позиций, из которых только четыре характерны также и для современных популяций, что указывает на наличие «бутылочного горлышка» через которое прошла популяция белуги в XX веке. Эти образцы мы решили дополнительно секвенировать на платформе MG1 для получения более широкого и более глубокого покрытия.

Анализ секвенирования полных митогеномов древних белуг позволит впервые восстановить демографическую историю вида в бассейне реки Волга.

## ОРГАНИЗАЦИЯ МЕЖГЕННОГО СПЕЙСЕРА РИБОСОМНОЙ ДНК (IGS) У ПТИЦ

Демин А.Г.\*, Галкина С.А., Давидьян А.Г., Гагинская Е.Р.

Санкт-Петербургский государственный университет

\*e-mail: rustle.reed@gmail.com

Рибосомная ДНК (гены рРНК и разделяющие их спейсеры) относятся к наиболее важным участкам генома. При этом несколько консервативны гены рРНК. настолько разнообразны спейсерные последовательности, содержащие различные регуляторные элементы. Информация о строении и эволюции IGS позвоночных носит обрывочный характер и опирается на данные, полученные для человека, мыши (BK000964.3, NCBI), ксенопуса, окуня, курицы и черепах.

Целью данной работы было изучение организации и особенностей эволюции последовательности IGS внутри класса *Aves*. Поиск полных последовательностей IGS проводили с использованием алгоритма BLAST в неаннотированных данных полногеномного секвенирования (WGS и Genome, NCBI), а также в архивах сырых ридов PacBio и Oxford Nanopore (SRA, NCBI). Сборка последовательностей IGS из сырых ридов, а также анализ их структуры выполнялись в пакете программ Geneious.

Нами впервые собраны и аннотированы полные последовательности IGS 21 вида птиц, относящихся к 12 отрядам новонепных (*Accipitriformes*, *Anseriformes*, *Caprimulgiformae*, *Columbiformes*, *Falconiformes*, *Galliformes*, *Gruiformes*, *Passeriformes*, *Piciformes*, *Procellariiformes*, *Psittaciformes*, *Strigiformes*) и одному отряду бескилевых (*Casuariiformes*). Многообразие использованных в исследовании таксонов охватывает все основные эволюционные ветви класса *Aves*.

IGS в рибосомных повторах птиц характеризуются большим разнообразием структуры. Заметным элементом IGS служат GC-богатые tandemные повторы протяженностью до нескольких сотен пар нуклеотидов. Они могут располагаться в любом районе IGS, но наиболее характерны для 3'-концевого участка, фланкируя область инициации транскрипции. GC-богатые повторы являются наиболее эволюционно консервативными элементами IGS птиц, сохраняя сходство у представителей близких отрядов. 5'-конец IGS птиц гораздо менее консервативен. Здесь присутствуют либо poly-T последовательности, либо повторы, обогащенные тимином. По всей видимости, такие последовательности должны играть роль в терминации транскрипции. Помимо повторов, весомый вклад в структуру IGS птиц вносят уникальные последовательности, чаще занимающие центральную его часть. Как правило, они насыщены областями низкой сложности, а также фрагментами мобильных генетических элементов, вирусов, и обладают высокой межвидовой вариабельностью. Быстрая реорганизации последовательности IGS и высокая скорость эволюции ее составных элементов даже на уровне семейств и близких отрядов, вероятно, обусловлена обеспечением одного из механизмов тонкой настройки функционирования рибосомной ДНК, влияющих на особенности онтогенеза, у различных таксонов птиц.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 22-24-00538.



## ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ АССОЦИИРОВАННЫХ С АПОПТОЗОМ И КАНЦЕРОГЕНЕЗОМ В ГИПОТАЛАМУСЕ МЫШЕЙ: ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО СОЦИАЛЬНОГО СТРЕССА

Коваленко И.Л.<sup>1</sup>, Галямина А.Г.<sup>1</sup>, Смагин Д.А.<sup>1</sup>, Кудрявцева Н.Н.<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

<sup>2</sup>Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург

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

Хронический социальный стресс приводит к развитию смешанного тревожно/депрессивного расстройства, которое сопровождается формированием психогенного иммунодефицита и стимуляцией онкологических процессов у мышей [1]. Целью исследования было выявить в гипоталамусе дифференциально экспрессирующиеся гены, кодирующие белки, ассоциируемые с механизмами канцерогенеза и апоптоза у самцов мышей с выраженной депрессивной симптоматикой. Тревожно/депрессивное состояние у мышей линии C57BL/6J формировали в течение 20 дней под влиянием хронического социального стресса, вызванного негативным социальным опытом в ежедневных агонистических взаимодействиях. Транскриптом гипоталамуса мышей был секвенирован в ЦКП «Геноаналитика» (<http://genoanalytica.ru>). Были выделены гены, кодирующие белки, которые согласно базе данных (<http://deathbase.org>) участвуют в механизмах апоптоза и канцерогенеза. Анализ результатов (RNA-Seq) выявил, что у депрессивных животных изменилась экспрессия у 62 генов, из них у 39 генов (63%) экспрессия была увеличена и снижена - у 23 генов (37%). При корреляционном анализе были выделены гены *Akt1*, *Bag6*, *Foxp4*, *Mapk3*, *Mapk8*, *Nol3*, *Pdcd10*, *Xiap*, экспрессия которых в максимальной степени была скоррелирована с работой других генов ( $R > 0.950$ ). Предполагается, что именно эти гены обеспечивают скоординированность нейрогеномных изменений в гипоталамусе, причем ведущую роль, может играть ген *Mapk3*, с наиболее выраженной экспрессией. Дальнейшее изучение роли этих генов и кодируемых ими белков в последствиях хронического социального стресса может быть полезным для разработки методов фармакологической коррекции психосоматических патологий.

Работа выполняется при поддержке Российского Научного Фонда (грант № 19-15-00026) и Бюджетного Проекта (грант № FWNR-2022-0019).

1. Kudryavtseva N.N., Shurlygina A.V., Galyamina A.G., Smagin D.A., Kovalenko I.L. et al. Immunopathology of mixed anxiety/depression disorders: An experimental approach to studies of immunodeficiency states (review). *Neurosci. Behav. Physiol.* 2019. 49(3):384-398

## ТРАНСКРИПТОМИКА УША РЕГЕНЕРИРУЮЩИХ ИГЛИСТЫХ МЫШЕЙ *ACOMYS CAHIRINUS* НА УРОВНЕ ЕДИНИЧНЫХ КЛЕТОК

Козлова О.С.\*, Билялов А.И., Несмелов А.А., Газизова Г.Р., Шагимарданова Е.И., Гусев О.А.

Казанский Федеральный Университет, Казань

\*e-mail: olga-sphinx@yandex.ru

Игlistые мыши (*Acomys*) обладают исключительной способностью к регенерации после повреждения внутренних органов, полнослойного иссечения кожи и пробойной биопсии ушной раковины. Однако исследование такой выдающейся модели регенерации с использованием современных методов молекулярной биологии и биоинформатики ограничено не только проблемами, связанными с разведением и содержанием колонии мышей, но также отсутствием (на настоящий момент) качественной геномной сборки для этого вида. Данное исследование представляет собой первую попытку проанализировать процесс регенерации ушных раковин каирской мыши *Acomys cahirinus* с помощью секвенирования РНК единичных клеток (single-cell RNA sequencing).

Библиотеки для секвенирования были подготовлены с использованием протокола 10X Genomics Single Cell 5' R2-only и представляли собой контрольный образец (ткань, взятая сразу после пробойной биопсии) и образец через двое суток регенерации. С целью упрощения анализа, а также по причине отсутствия качественной сборки и аннотации генома игlistой мыши, чтения были закартированы на геном *Mus musculus* (с ослабленными параметрами картировщика STAR в программном конвейере cellranger count). Дальнейшая обработка данных осуществлялась с использованием пакетов R Seurat и conpos.

Для биоинформатического анализа было отобрано порядка 4600 и 6800 клеток высокого качества (контрольный и регенерирующий образцы, соответственно). С использованием известных клеточных маркеров для мыши, удалось идентифицировать все основные типы клеток ушной раковины, включая эндотелиальные клетки, хрящ, кератиноциты, клетки гладкой мускулатуры, жировые клетки, дермис, глиальные и иммунные клетки, нейроны. Интеграция клеток двух образцов показала определённые различия в структуре кластеров клеток, в частности, наличие кластера клеток хряща, исключительно специфичного для регенерирующего образца.

Проект поддержан Российской Федерацией в лице Министерства Науки и Высшего Образования (№ 075-15-2021-1344).

## ГЕНОТИПИРОВАНИЕ МАКАК-РЕЗУСОВ ПО ГЕНАМ ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ *Mamu-A* И *Mamu-B* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАНОПОРОВОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Котова Е.С.\*, Каньгина А.В., Желанкин А.В., Бабенко В.В., Болдырева Д.И., Генерозов Э.В., Шарова Е.И.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины ФМБА», Москва

\*e-mail: potamantus@mail.ru

Высокопроизводительное секвенирование второго поколения позволяет добиваться высокой точности прочтений, а третьего поколения - большой длины прочтений, однако совместить эти две возможности пока не удалось. Поэтому проблема определения нуклеотидных последовательностей высокомолекулярных между собой протяженных участков ДНК\РНК по-прежнему существует. С данной проблемой сталкиваются, в том числе, при генотипировании модельного объекта макаки-резуса по генам, кодирующим субъединицы главного комплекса гистосовместности I типа, *Mamu-A* (имеет несколько копий в геноме [1]) и *Mamu-B* (имеет более 20 копий в геноме [1]). Целью нашей работы стала оптимизация методики высокоточного нанопорового секвенирования с использованием уникальных молекулярных индексов (УМИ) [2] для определения нуклеотидных последовательностей кодирующей части генов *Mamu-A* и *Mamu-B*.

Используемая для секвенирования библиотека представляла собой результат таргетной ПЦР-амплификации кодирующей части кДНК *Mamu-A* и *Mamu-B*. Для специфичной амплификации интересующих нас участков ДНК и введения УМИ, нами были использованы праймеры с довесками, аналогичные описанным Karst и соавт. [2], в которых специфичная к исследуемому участку ДНК область соответствовала началу и концу белок-кодирующей части кДНК *Mamu-A* и *Mamu-B* [3]. Секвенирование проводилось на приборе MinION с проточной ячейкой R10.3, было получено примерно 42 тыс. прочтений. Последующая биоинформатическая обработка показала, что требуется дополнительная оптимизация протокола для снижения разнообразия УМИ в итоговой библиотеке и увеличения представленности каждого отдельного УМИ. Также в результате анализа данных секвенирования помимо описанных ранее аллелей, был выявлен аллельный вариант гена *Mamu-A*, не присутствующий в базе данных IPD MHC [4]. Он отличался от наиболее сходного с ним аллеля Mamu-A\*019:05 3-мя заменами.

1. C Rosner et al. (2010) Rhesus macaque MHC class I molecules show differential subcellular localizations. *Immunogenetics*, **62**(3): 149–158.

2. S.M. Karst et al. (2021) High-accuracy long-read amplicon sequences using unique molecular identifiers with Nanopore or PacBio sequencing. *Nature methods*, **18**(2), 165–169.

3. D.M. Dudley et al. (2014) Full-length novel MHC class I allele discovery by next-generation sequencing: two platforms are better than one. *Immunogenetics*, **66**(1): 15–24.

4. J Robinson et al. (2020) The IPD-IMGT/HLA Database. *NAR*, **48**: D948-55.

## ХРОМОСОМНЫЕ ПЕРЕСТРОЙКИ В ЭВОЛЮЦИИ ГЕНОМА НИЛЬСКОГО КРОКОДИЛА (*CROCODYLUS NILOTICUS*, CROCODYLIDAE, REPTILIA)

Романенко С.А.<sup>1\*</sup>, Проскурякова А.А.<sup>1</sup>, Прокопов Д.Ю.<sup>1</sup>, Давлетшина Г.И.<sup>1</sup>,  
Фофанов М.В.<sup>1</sup>, Кабилов М.Р.<sup>2</sup>, Трифонов В.А.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН

<sup>2</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

<sup>3</sup>Новосибирский государственный университет

\*e-mail: rosa@mcb.nsc.ru

Крокодиловые являются сестринским таксоном птиц в пределах Archosauria. Кариотипы большинства видов крокодилов изучены методами традиционной и молекулярной цитогенетики (в основном, проведено картирование сателлитных повторов). Сравнительные цитогенетические исследования ограничены определением гомологии макрохромосомам курицы. Очень мало геномных работ посвящено крокодиловым, до сих пор отсутствуют сборки их геномов до уровня хромосом.

Мы получили набор микродиссекционных хромосомоспецифичных проб нильского крокодила (*Crocodylus niloticus*,  $2n=32$ ). Пробы были локализованы на хромосомах исходного вида для привязки к физической карте хромосом. По результатам флуоресцентной гибридизации *in situ* были отобраны 16 хромосомоспецифичных библиотек, соответствующих всем отдельным парам хромосом в кариотипе нильского крокодила, и проведено их секвенирование на платформе MGISEq2000. Полученные последовательности были выровнены на референсный геном курицы, что позволило нам идентифицировать предковые синтенные блоки в геноме нильского крокодила. Для определения ориентации синтенных блоков нами была проведена локализация 20 ВАС-клонов курицы (CHORI-261) на метафазных хромосомах нильского крокодила.

По результатам работы впервые была получена полная сравнительная карта хромосом нильского крокодила и курицы.

Работа поддержана грантом РФФИ № 19-54-26017.

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПРЕДКОВЫХ СИНТЕННЫХ БЛОКОВ И ПОЛОВЫХ ХРОМОСОМ У ЙЕМЕНСКОГО ХАМЕЛЕОНА (*CHAMAELEO CALYPTRATUS*, IGUANIA, REPTILIA)

Тишакова К.В.<sup>1,2\*</sup>, Прокопов Д.Ю.<sup>2</sup>, Давлетшина Г. И.<sup>2,3</sup>, Трифонов В.А.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Новосибирский государственный университет, Новосибирск

<sup>2</sup>Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск

<sup>3</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

\*e-mail: k.tishakova@g.nsu.ru

Йеменские хамелеон (*Chamaeleo calyptratus*, CCA) является типичным представителем семейства хамелеоновые и перспективным объектом для исследований в различных областях биологии, таких как экология, биология развития и сравнительная геномика. Кариотип *C. calyptratus* бимодален и состоит из 12 пар хромосом, а также характеризуется гомоморфными половыми хромосомами системы XX/XY. На уровне геномных исследований йеменский хамелеон до сих пор остается малоизученным: известны данные о сборке транскриптома, однако сборки генома до хромосом пока не опубликованы.

В данной работе мы исследовали геном *C. calyptratus* с помощью метода ChromSeq (Single Chromosome Sequencing), который основан на секвенировании специфичных хромосомных ДНК-библиотек. ДНК-библиотеки были получены путем хромосомного сортирования и секвенированы с использованием платформы Illumina MiSeq. Полученные последовательности выравнивались на референсные геномы каролинского анолиса (*Anolis carolinensis*, ACA), кариотип которого является предковым для всех игуан, и заборной игуаны (*Sceloporus tristichus*). Идентификация пары половых хромосом проводилась путем картирования RAD-seq маркеров, специфичных для самцов, в хромосомных ДНК-библиотеках с помощью ПЦР.

Сравнительный анализ показал, что уменьшение числа хромосом в кариотипе йеменского хамелеона относительно предкового кариотипа произошло в результате слияний микрохромосом как между собой, так и с макрохромосомами. Мы идентифицировали пятую пару макрохромосом (CCA5) как половые хромосомы, которые содержат синтенные группы, гомологичные ACA5 и ACAX. Ранее данные синтенные блоки были описаны в составе половых хромосом у многих видов чешуйчатых рептилий.

Таким образом, мы идентифицировали основные хромосомные перестройки, которые произошли в кариотипе *C. calyptratus* по сравнению с предковым кариотипом и определили хромосомную пару, являющуюся половой. Наши данные могут быть использованы для уточнения будущих сборок генома *C. calyptratus* до хромосомного уровня.

Благодарности: данная работа была выполнена при поддержке гранта РФФИ (№19-54-26017) и гранта Министерства науки и высшего образования РФ №2019-0546 (FSUS-2020-0040).

## MODULATION OF THE EXPRESSION OF GENES RELATED TO THE NEUROINFLAMMATION, AUTOPHAGY, AND NEURODEGENERATION IN THE BRAIN BY THE CENTRAL ADMINISTRATION OF AMYLOID-BETA IN MICE

**Tikhonova M.A.\***, Belichenko V.M., Bashirzade A.A., Tenditnik M.V., Amstislavskaya T.G.  
*Scientific Research Institute of Neurosciences and Medicine, Novosibirsk, Russia*  
*\*e-mail: tikhonovama@physiol.ru*

Identification of key pathogenetic mechanisms of Alzheimer's disease (AD) using adequate animal models that reproduce various signs of the pathology seems to be a priority area of research. Animal models of AD induced by intracerebroventricular (ICV) or intrahippocampal (IH) administration of oligomeric forms of amyloid-beta ( $A\beta$ ) to laboratory rodents are widely used in current research [1]. In addition to widely studied effects of  $A\beta$  on protein expression,  $A\beta$  may induce disturbances in the expression of genes related to synaptic plasticity or cell signaling. The aim of the work was to compare the expression of genes related to the neuroinflammation, autophagy, and neurodegeneration in the brain in two models of AD induced by ICV or IH administration of  $A\beta_{25-35}$  oligomers ( $A\beta_{O_{25-35}}$ ) to C57BL/6 mice (3 m.o.) The analysis was performed using qPCR-RT. mRNA levels of the genes for neuroinflammation (*Aif1*, *Lcn2*, *Nrf2*), autophagy (*Atg8*, *Becn1*, *Park2*), and markers of neurodegeneration (*Cst3*, *Insr*, *Vegfa*) were assessed. Similar severity of amyloid pathology measured by  $A\beta$  load was found in both models of  $A\beta_{O_{25-35}}$  administration. The mRNA levels of genes related to neuroinflammation were elevated in the hippocampus (*Lcn2*, ICV) and amygdala (*Aif1*, ICV). Mitophagy activity (*Park2*) was suppressed in the cortex (IH) and increased in the amygdala (ICV). Neurodegenerative alterations were revealed by the reduced mRNA levels in the hippocampus (*Vegfa*, ICV, IH), frontal cortex (*Cst3*, ICV; *Insr*, IH; *Vegfa*, ICV), and amygdala (*Vegfa*, ICV). *Conclusion:* Despite similar effects on  $A\beta$  deposition, there were certain differences in the course of AD-like pathological processes induced by ICV or IH, which should be taken into account while modeling various aspects of AD.

The study was supported by budgetary funding for basic scientific research of the Scientific Research Institute of Neurosciences and Medicine (theme No. 122042700001-9 (2021-2025)). The studies were partially implemented using the Unique scientific installation "Biological collection - Genetic biomodels of neuro-psychiatric disorders" (No 493387) at the Scientific Research Institute of Neurosciences and Medicine.

1. L.S.Wang et al. (2019) Cajaninstilbene acid ameliorates cognitive impairment induced by intrahippocampal injection of amyloid- $\beta_{1-42}$  oligomers, *Frontiers in pharmacology*, **10**: 1084. doi: 10.3389/fphar.2019.01084.

## ОЦЕНКА ГЕТЕРОГЕННОСТИ ТРАНСКРИПТОМОВ ПЕЧЕНОЧНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ

**Арзуманян В.А.\***, Поверенная Е.В.

*ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва*

*\*e-mail: arzumanian.victoria@gmail.com*

Во многих исследованиях вместо биопсии печени используют клеточные линии из-за их низкой стоимости и сохранения активности большинства ключевых ферментов. Печеночные линии применяются для исследования рака и метаболизма лекарств. Часто используются клеточные линии HepaRG, Huh7, SK-Hep-1, Hep3B и HepG2.

Долгое время считалось, что клеточные линии имеют относительно воспроизводимый молекулярный профиль, что позволяет различать их между собой на основе коротких tandemных повторов или профилях экспрессии генов. Широкомасштабное исследование линии HeLa в 2019 году показало, что клеточные линии, принадлежащие к одному типу, могут существенно отличаться между собой по геномному и транскриптомному профилю. Цель данного исследования изучить гетерогенность транскриптомов печеночных клеточных линий.

Для оценки гетерогенности, согласно количеству имеющихся опубликованных данных, были выбраны три печеночные клеточные линии: HepG2, Hep3B и Huh7. Образцы для исследования были извлечены из базы данных NCBI SRA и отбирались по следующим критериям: количество ридов >20 млн, средняя длина рида >50, технология секвенирования Illumina. По данным критериям для HepG2 было отобрано 15 образцов, для Huh7 - 11, Hep3B - 5.

В результате на геномном уровне клеточные линии показали слабую корреляцию между образцами ( $R=0,88$ ). На транскриптомном уровне корреляция для каждой клеточной линии снизилась ( $R=0,715$ ). Таким образом, для всех печеночных линий наблюдалась гетерогенность как на геномном, так и на транскриптомном уровнях.

Для того чтобы исключить техническую ошибку, мы рассчитали экспрессию транскриптов 4 методами: Kallisto, Salmon (mapping-based mode, Salmon fasta; alignment-based mode, Salmon bam) и eXpress. В результате проведенного исследования программы с методами псевдо- и квазивыравнивания показали низкую корреляцию (Kallisto – 0,673, Salmon fasta – 0,677) и частоту встречаемости транскриптов между образцами (Kallisto – 0,36, Salmon fasta – 0,337). Методы, для которых предварительно проводилось выравнивание в программе Hisat2, показали следующие результаты по частоте встречаемости: Salmon bam – 0,46, eXpress – 0,448. В результате анализа программа Salmon bam показала лучший результат как по частоте встречаемости (0,46), так и по уровню корреляции ( $R=0,715$ ).

Таким образом, гетерогенность транскриптомного профиля на уровне экспрессии транскриптов клеточных линий может быть вызвана как биологическими отличиями, так и техническими в случае использования методов на основе псевдо- и квазивыравнивания.

Данная работа выполняется в рамках гранта РФФИ № 20-14-00328.



## ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫЙ ПОДХОД ПРИ МЕДИКО-ГЕНЕТИЧЕСКОМ КОНСУЛЬТИРОВАНИИ ПАЦИЕНТОВ С МУКОВИСЦИДОЗОМ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

**Аюпова Г. Р.,** Миннихметов И. Р., Хусаинова Р. И.

*Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа.*

*\*e-mail: guzel8319@gmail.com*

**Введение.** Персонализированный подход к оказанию медицинской помощи пациентам с учетом индивидуального генетического профиля с применением новых технологий ДНК диагностики позволяет поднять на новый уровень оказание медико-генетического консультирования.

**Цель исследования.** Реализация программы современной молекулярно-генетической диагностики наследственных заболеваний в Республике Башкортостан.

**Материалы и методы исследования.** В исследовании приняли участие 94 пробанда из регистра больных муковисцидозом Республики Башкортостан. На первом этапе исследования проводились с использованием мультиплексной лигазно-зависимой амплификации зондов (SALSA MLPA Probemix P091 CFTR, MRC Holland). На следующем этапе проведено секвенирование всех экзонов гена CFTR методами Сэнгера и секвенирования следующего поколения (NGS).

**Результаты.** Мы применили персонализированный подход для пациентов с муковисцидозом. В результате проведенной ДНК-диагностики идентифицировано 25 вариантов изменений с патогенной значимостью на 95,2% хромосомах.

Наиболее частыми оказались 5 мутаций: F508del, E92K, CFTRdele2-3, 3849+10kbC>T и L138ins9, которые в сумме составили 80,8% от всех мутаций. Еще 7 мутаций: Y84X, 2143delT, 394delTT, N1303K, W1282X, 1525-1G>A составили 14,1%. Остальные мутации были единичными и не являются регион специфичными.

**Выводы.** Определение 11 основных мутаций в гене CFTR включено в алгоритм ДНК диагностики муковисцидоза в Республике Башкортостан, что позволило улучшить качество и эффективность медико-генетической помощи и пациенты могут получать таргетную терапию, которая применяется с учетом эффекта мутаций. Благодаря проведенным исследованиям, 10 детей из Республики Башкортостан в настоящее время получают дорогостоящую патогенетическую таргетную терапию препаратом МНН: ивакафтор+лумакафтор.

## РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ ДЛЯ ПРЕИМПЛАНТАЦИОННОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ ХРОСОМНЫХ АНЕУПЛОИДИЙ (ПГТ-А) МЕТОДОМ МАССОВОГО ПАРАЛЛЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

Игнатов К. Б.<sup>1</sup>, Анисименко М. С.<sup>1</sup>, Гаранин А. Ю.<sup>1</sup>, **Борисова М. А.<sup>1</sup>**, Штокало Д. Н.<sup>2</sup>,  
Помазной М. Ю.<sup>2</sup>, Коваленко С. П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ООО «ДНК-Дисплей», г. Новосибирск,

<sup>2</sup>ООО «Новые Программные Системы», г. Новосибирск.

\*e-mail: mariazolat@yandex.ru

Преимплантационное генетическое тестирование на анеуплоидии (ПГТ-А) становится важнейшим элементом в протоколах ЭКО. Цель работы – создание системы для ПГТ-А, включающей полногеномную амплификацию ДНК, фрагментирование, введение индексов и адаптеров для секвенирования, анализ данных секвенирования с помощью программного обеспечения с выдачей заключения о результате тестирования.

Полногеномную амплификацию проводили с помощью улучшенной версии ПЦР с вырожденными праймерами. В качестве фермента использовали SD ДНК-полимеразу, которая обладает мощной вытесняющей активностью, при этом у фермента отсутствует 5'-3'-экзонуклеазная активность. Фрагментацию продуктов проводили с помощью ДНКазы I и SD ДНК-полимеразы. ДНКазы I вносит одноцепочечные разрывы в молекулу двуцепочечной ДНК. Вытесняющая активность SD ДНК-полимеразы позволяет достроить цепь ДНК с получением перекрывающихся последовательностей двуцепочечных фрагментов, имеющих 3'-А выступы на концах. Далее осуществляли Т-А-лигирование фрагментов с индексами и адаптерами с последующим обогащением. Анализ полученных ДНК-библиотек проводили на приборе MiSeq (Illumina, США). Данные секвенирования (fastq-файлы) анализировали с помощью разработанного программного обеспечения.

С помощью разработанной системы проведён анализ серии образцов ДНК, полученных от доноров с хромосомными аномалиями, из абортного материала и из клеток эмбрионов. В результате анализа подтверждено наличие трисомии у доноров (21 хромосома), выявлены трисомии в образцах из абортного материала (хромосомы 13, 16, 18, 22), моносомии (хромосомы 1, 2, 5, 11, 15, 17) и различные структурные аномалии в образцах клеток эмбрионов.

Таким образом, разработана система для анализа анеуплоидий, включающая полногеномную амплификацию, ферментативную фрагментацию, введение адаптеров с индексами, обогащение полученных библиотек и анализ данных с помощью программного обеспечения.

## ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛНОЭКЗОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДЛЯ ПОИСКА НОВЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАНТОВ, СВЯЗАННЫХ С ВАРИАБЕЛЬНОСТЬЮ КОГНИТИВНЫХ ФУНКЦИЙ ЧЕЛОВЕКА.

Бочарова А.В.<sup>1\*</sup>, Вагайцева К.В.<sup>1</sup>, Марусин А.В.<sup>1</sup>, Макеева О.А.<sup>2</sup>, Степанов В.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ, Томск

<sup>2</sup> Центр клинических исследований Неббиоло, Томск

\*e-mail: [anna.bocharova@medgenetics.ru](mailto:anna.bocharova@medgenetics.ru)

Снижение когнитивных функций с возрастом, как при нормальном старении, так и при патологических проявлениях, является важной медико-социальной проблемой. Секвенирование следующего поколения (NGS) все чаще используется для выявления известных и новых генных мутаций. Целью данной работы было проведение подтверждающего анализа ассоциаций с когнитивными параметрами, выявленных с помощью экзомного секвенирования и полноэкзомного анализа ассоциаций в выборке пожилых людей, не имеющих диагнозов нейродегенеративных и психических заболеваний. С помощью ресурса Assay Design Suite были сгенерированы две мультиплексные панели (59 SNP). Мультиплексное генотипирование генетических маркеров проводили с помощью метода MALDI-TOF масс-спектрометрии. В качестве основного показателя когнитивных функций использовали общее значение теста МоСА (Монреальская шкала оценки когнитивных функций). Анализ ассоциаций генетических маркеров с когнитивными параметрами выполнен на выборке из 708 пожилых индивидов, здоровых в отношении нейродегенеративных и психических заболеваний. Анализ ассоциаций генетических маркеров с суммарным результатом теста МоСА выполнен методом множественной линейной регрессии (GLM). В качестве зависимой переменной использовано суммарное значение баллов МоСА-теста, а в качестве независимых качественных и количественных переменных: пол, SNP, возраст, индекс массы тела. Для подтверждения выявленных взаимосвязей данные были проанализированы непараметрическими методами с помощью тестов Краскелла-Уоллиса и медианного теста. Методом GLM выявлена взаимосвязь снижения когнитивных функций в пожилом возрасте с генетической вариабельностью rs4905757 (*C14orf177*), rs6051449 (*VPS16*) и rs730819 (*PTPRA/VPS16*). Данные об ассоциации суммарного балла теста МоСА с изменчивостью rs113648411 (*MYO16*), rs3802824 (*KIRREL3*), rs429358 (*APOE*) и rs599255 (*FARPI*) согласуются с литературными данными связи этих генов с нейродегенеративными и психиатрическими заболеваниями и рядом родственных когнитивных фенотипов.

Работа была поддержана грантом РФФИ № 20-015-00397.

## СЕКВЕНИРОВАНИЕ МАЛЫХ РНК ДЛЯ ОЦЕНКИ ВЛИЯНИЯ ТИПА АНТИКОАГУЛЯНТА В ПРОБИРКАХ ДЛЯ ЗАБОРА КРОВИ НА ПРОФИЛИ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ МИКРОРНК ПЛАЗМЫ

Желанкин А.В.\*, Юльметова Л.Н.

ФГБУ ФНКЦ Физико-химической медицины ФМБА России

\*e-mail: zhelankin.andrey@gmail.com

Циркулирующие внеклеточные микроРНК (ц-микроРНК) стабильно обнаруживаются в плазме и рассматриваются как перспективные биомаркеры различных патологий человека. Однако, пре-аналитические факторы могут оказывать существенное влияние на профили ц-микроРНК. Целью данного исследования являлся комплексный анализ профилей ц-микроРНК в образцах плазмы, полученных с использованием различных антикоагулянтов при заборе крови.

Образцы крови были получены от десяти условно здоровых лиц (пять мужчин и пять женщин от 25 до 40 лет) с использованием вакуумных пробирок с четырьмя типами антикоагулянтов: АСД-В, цитрат натрия, СТАД и К2-EDTA. Образцы плазмы были получены с помощью двухэтапного центрифугирования. Малые РНК были выделены из плазмы и использованы для приготовления библиотек РНК с помощью набора NEXTFLEX Small RNA-Seq Kit (PerkinElmer). Для 36 образцов с удовлетворительным качеством библиотек было проведено секвенирование малых РНК с помощью системы Illumina NextSeq 500 при одноконцевых прочтениях длиной 75 нуклеотидов.

Данные секвенирования были обработаны с помощью программного пакета Quick-MIRSeq. Образцы, в которых доля прочтений микроРНК составляла менее 30%, были исключены из дальнейшего анализа. Финальная выборка включала 30 образцов со средним количеством прочтений микроРНК около 1,6 млн и средним процентом прочтений микроРНК около 75%. В среднем в образцах обнаруживалось 308 видов микроРНК. В образцах с К2-EDTA были показаны более высокие значения коэффициента гемолиза плазмы на основе спектрофотометрического измерения пика оксигемоглобина. Повышенный гемолиз эритроцитов также сказывался на профилях ц-микроРНК. Анализ главных компонент показал, что в образцах с К2-EDTA профили ц-микроРНК отличаются от таковых в образцах с другими типами антикоагулянтов. В образцах с К2-EDTA доля микроРНК эритроцитарного происхождения была существенно выше, чем в образцах с другими типами антикоагулянтов; при этом доля микроРНК тромбоцитарного происхождения была снижена. Было выявлено 25 микроРНК со статистически значимыми различиями в экспрессии между типами антикоагулянта ( $FDR < 0,05$ ). Большинство из них являлись связанными с гемолизом эритроцитов и обладали повышенной экспрессией ( $\log_2 FC > 1$ ) в образцах с К2-EDTA. Наиболее высокопредставленными микроРНК с наиболее явными различиями являлись miR-486-5p, miR-451a, miR-16-5p и miR-92a-3p. Только для одной микроРНК, miR-4732-3p, было обнаружено значимое снижение экспрессии в образцах с К2-EDTA. Не было обнаружено статистически значимых различий в профилях ц-микроРНК между образцами с АСД-В, цитратом натрия и СТАД.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 21-75-00114.

## ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ МАЛЫХ ЯДРЫШКОВЫХ РНК В КЛЕТКАХ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЛЕГКИХ ЧЕЛОВЕКА A549 В УСЛОВИЯХ ЗАРАЖЕНИЯ ВИРУСОМ ГРИППА А

**Журавлев Е.С.<sup>1\*</sup>**, Сергеева М.В.<sup>2</sup>, Комиссаров А.Б.<sup>2</sup>, Степанов Г.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск*

<sup>2</sup>*НИИ группа им. А. А. Смородиной, Санкт-Петербург*

\**e-mail: evgenijur@gmail.com*

Данная работа направлена на изучение функций коротких регуляторных РНК, а именно класса малых ядрышковых РНК (мяоРНК), в клетках человека в условиях заражения вирусом гриппа А. В качестве модельной системы были подготовлены препараты клеток линии аденокарциномы легких человека А549, зараженных вирусом гриппа А/Puerto Rico/8/1934 (H1N1). Было проведено транскриптомное исследование изменений в уровне представленности мРНК и нкРНК, а также коротких РНК (<200 н.) в клетках человека в условиях вирусной инфекции (исследование проводили на платформе NextSeq Illumina 500, single-end 1×75). Биоинформатический анализ результатов секвенирования poly-A-фракции подтвердил активацию основных функциональных кластеров, характерных для инфекции клеток вирусом гриппа. Анализ фракции коротких РНК позволил выявить укороченные формы малых ядрышковых РНК, представляющие собой 5'- и 3'-фрагменты зрелых мяоРНК, со значительно повышенным и пониженным содержанием в клетках в условиях вирусной инфекции (отбор проводили с использованием параметров  $\text{adj. } p\text{-value} < 0.05$ ,  $|\log_2(\text{FC})| > 1$ ). Обнаруженные изменения в уровне экспрессии ряда малых ядрышковых РНК были верифицированы методом ОТ-ПЦР, в том числе с использованием stem-loop-обратных праймеров для селективной детекции 5'- и 3'- укороченных форм процессинга мяоРНК. Выявленные изменения в профиле экспрессии малых ядрышковых РНК позволяют предположить наличие неканонических функций этих РНК в регуляции инфекции клеток человека вирусом гриппа.

Для расширения представлений об участии малых ядрышковых РНК в регуляции инфекции клеток человека вирусом гриппа А, с помощью технологии CRISPR/Cas9 были получены клеточные линии на основе клеток человека А549 с подавлением уровня мяоРНК SNORD93, для которой было характерно достоверное повышение уровня 5'- и 3'-форм процессинга зрелой мяоРНК в инфицированных клетках. Полученные модифицированные клеточные линии были использованы для изучения чувствительности к заражению вирусом гриппа А.

Исследование поддержано в рамках государственного задания ИХБФМ СО РАН № 122022100238-7 (получение модифицированных клеточных линий) и гранта РФФИ № 19-34-90168 (секвенирование и биоинформатический анализ данных).

## BRCA 1/2-АССОЦИИРОВАННЫЙ РАК ЯИЧНИКОВ В ПРИМОРСКОМ КРАЕ

Журман В.Н.<sup>1</sup>, Плехова Н.Г.<sup>2</sup>, Филипенко М.Л.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ГБУЗ Приморский краевой онкологический диспансер, г. Владивосток

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО Тихоокеанский государственный университет Минздрава России

<sup>3</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины, СО РАН

e-mail: varvara2007@yandex.ru

Носители герминальных мутаций генов-супрессоров опухолей Breast cancer susceptibility risk BRCA1/2 имеют повышенный риск развития рака молочной железы, яичников и некоторых других форм рака. При соматических мутациях функциональность BRCA теряется только в одной клетке, которая может стать малигнизированной и дать начало опухоли. Проводили анализ SNP генов BRCA1/2 в ДНК лейкоцитов (n=143) и фиксированных в формалине и залитых в парафин (FFPE) тканей опухоли (n=208) пациентов (n=306) с раком яичника. Мультиплексная амплификация целевых последовательностей ДНК осуществлялась с помощью ПЦР, Концентрация суммарной библиотеки осуществлялась при помощи набора KAPA Library Quantification Kits, KAPABiosystems, которая секвенировалась на MiniSeq с использованием набора реагентов High Output Reagent Kit (300 cycles). Установлено, что в группе носителей SNP BRCA1/2, как и в группе отрицательных, преимущественно определяется рак яичника умеренной и низкой степеней дифференцировки (G2-3). Согласно спектру патогенных мутаций генов BRCA определено, что 60 больных раком яичника имели полиморфизмы гена BRCA1 (90,9%) и 6 пациентов гена BRCA2 (9,1%). Причем, не было обнаружено ни одного обследуемого с одновременным носительством мутаций в обоих генах. Достоверное различие показателей общей продолжительности жизни обнаружено между группами обследованных, где у пациентов с наличием мутаций она составила 62 месяца (p=0,003). Таким образом показано, что мутации BRCA1/2 связана с повышением продолжительности общей выживаемости, но улучшение наблюдалось только у пациентов с первичным и рецидивирующим заболеванием, а не у пациентов в более поздних стадиях. SNP генов BRCA1 и BRCA2 по отдельности не были связаны с указанным показателем. Дальнейшее выяснение характеристик мутаций и их влияния на выживаемость пациентов в большем количестве наблюдений с учетом ответа на терапию может привести к более индивидуализированному подходу к лечению рака яичников.

## ПРИМЕНЕНИЕ ТЕХНОЛОГИИ СЕКВЕНИРОВАНИЯ СЛЕДУЮЩЕГО ПОКОЛЕНИЯ ДЛЯ ПОИСКА ПАТОГЕННЫХ МУТАЦИЙ У ПАЦИЕНТОВ С НЕЗАВЕРШЕННЫМ ОСТЕОГЕНЕЗОМ

**Зарипова А.Р.<sup>1\*</sup>, Хусаинова Р.И.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, г. Уфа

<sup>2</sup>Башкирский государственный университет, г. Уфа

\*e-mail: a.ramilna@bk.ru

Незавершенный остеогенез (НО, Q78.0 по МКБ-10) – орфанное заболевание соединительной ткани. В патогенезе НО участвуют 25 генов и тяжесть заболевания варьируется от легкой (без деформаций) до летальной формы.

Цель исследования - разработка NGS-таргетных панелей генов коллагена 1 типа (*COL1A1* и *COL1A2*) на основе платформы Illumina.

Секвенирование нового поколения (NGS) мы применили для определения наиболее значимых генетических вариантов у 62 пациентов из 52 семей, проживающих в Республике Башкортостан (РБ).

При помощи NGS – технологии всего было выявлено 29 мутаций в генах, ответственных за развитие НО, у 42 пациентов из 32 семей. Из них: в гене *COL1A1* - 16, в гене *COL1A2* - 11, в гене *P3H1* – 1, в гене *IFITM5* - 1. У 7 пациентов были идентифицированы единичные мутации в генах *CLCN7*, *ALOX12B*, *PLEKHM1*, *ERCC4*, *ARSB*, *PTH1R*, *TGFBI*, которые характерны для других заболеваний. Также были выявлены сочетанные варианты мутаций - с.2971G>C в гене *COL1A1* и с. 212G>C в гене *FGF23*; с.2869C>T в гене *COL1A1* и с.1197+5G>A в гене *COL1A2*; с.1197+5G>A в гене *COL1A2* и с.579delT в гене *COL1A1*; с.-14C>T в гене *IFITM5* и с.1903C>T в гене *LAMB3*. У 13 пациентов патогенные мутации не были идентифицированы.

При помощи NGS – технологии патогенные мутации, приводящие к НО, были найдены в 32 неродственных семьях из РБ. В нашей выборке в 93% случаев встречались мутации в генах коллагена 1 типа, поэтому нами была разработана собственная панель праймеров, предназначенная для амплификации целевых регионов генома, включающих CDS и сайты сплайсинга генов *COL1A1* и *COL1A2*, глубина прочтения - 300 циклов в режиме одно-концевых прочтений.

Работа была выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №20-315-90063



## ИЗМЕНЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В КЛЕТКАХ НЕК293А ДИКОГО ТИПА И НОКАУТНЫХ ПО БЕЛКАМ TDP1 И PARP1 ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ПРЕПАРАТОВ

**Захаренко А.Л.<sup>1\*</sup>**, Дырхеева Н.С.<sup>1</sup>, Малахова А.А.<sup>2</sup>, Медведев С.П.<sup>2</sup>, Лузина О.А.<sup>3</sup>, Тупикин А.Е.<sup>1</sup>, Кабилов М.Р.<sup>1</sup>, Огорокова Л.С.<sup>4</sup>, Закиян С.М.<sup>2</sup>, Салахутдинов Н.Ф.<sup>3</sup>, Лаврик О.И.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

<sup>2</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

<sup>3</sup>Новосибирский институт органической химии СО РАН, Новосибирск

<sup>4</sup>АкадемДжин, ООО, Новосибирск

\*e-mail: sashaz@niboch.nsc.ru

Тирозил-ДНК-фосфодиэстераза 1 (Tdp1) – фермент репарации ДНК, который очищает 3'-концы ДНК от ковалентных аддуктов различного происхождения, в том числе образованных под действием противоопухолевого препарата топотекана. Это соединение стабилизирует ковалентный комплекс топоизомеразы 1/ДНК, образующийся в ходе нормального каталитического акта. Таким образом, Tdp1 является одним из факторов резистентности опухолевых клеток к этому препарату. Поли(АДФ-рибозо)полимераза 1 (PARP1) – фермент, посредством поли(АДФ-рибозил)ирования управляющий множеством процессов в клетке, включая репарацию ДНК, поддержание целостности генома, клеточную гибель и другие. В число этих процессов входит также репарация повреждений ДНК, вносимых топотеканом.

Нашим коллективом обнаружен ряд ингибиторов Tdp1 среди производных природных биологически активных соединений [1], в числе которых производные усниновой кислоты, в частности, соединение ОЛ9-119, оказывающее выраженный сенсibiliзирующий эффект на цитотоксическое действие топотекана *in vitro* и противоопухолевое *in vivo*.

Для исследования механизма действия топотекана, соединения ОЛ9-119 и их комбинации, а также роли ферментов Tdp1 и PARP1 в репарации повреждений ДНК, вызванных этими препаратами, мы провели секвенирование транскриптомов клеток НЕК293А дикого типа, нокаутных по белкам Tdp1 и PARP1, обработанных указанными соединениями поодиночке или в комбинации. При сравнении клеток дикого типа с нокаутными найдены 2,5 тысячи дифференциально экспрессированных генов (ДЭГ) у клеток PARP1-/- и около тысячи ДЭГ у клеток Tdp1-/- . У всех мутантов ДЭГ были представлены в процессах, связанных с апоптозом, контролем клеточного цикла и процессингом белков в эндоплазматическом ретикулуме. При обработке противоопухолевыми препаратами наибольшие изменения в экспрессии генов наблюдаются в клетках дикого типа, наименьшие – в клетках PARP1-/- . При обработке топотеканом наибольшая степень ДЭГ наблюдается в сигнальных путях, связанных с апоптозом, контролем клеточного цикла, развитием мелкоклеточного рака легкого. При обработке соединением ОЛ9-119 более подвержены изменению экспрессии белки, участвующие в процессах апоптоза, контроля клеточного цикла, поддержания структуры хроматина. Комбинация препаратов вызвала ДЭГ в основном у клеток Tdp1-/- , также в процессах контроля клеточного цикла и апоптоза.

Работа поддержана грантом Минобрнауки № 075-15-2020-773

1. A.Zakharenko, et al. (2019) Dual DNA topoisomerase 1 and tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 inhibition for improved anticancer activity. *Med Res Rev.* **39**: 1427-1441.

ПОИСК НОВЫХ АУТОАНТИГЕНОВ, СВЯЗЫВАЮЩИХСЯ С ГЛАВНЫМ  
КОМПЛЕКСОМ ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ ВТОРОГО КЛАССА ЧЕЛОВЕКА  
ПРИ АУТОИММУННЫХ ПАТОЛОГИЯХ

**Ишина И.А.<sup>1\*</sup>**, Захарова М.Ю.<sup>1</sup> Нерсиян С.А.<sup>1</sup>, Жиянов А.П.<sup>1</sup>, Давыдов А.Н.<sup>2</sup>,  
Курбацкая И.Н.<sup>1</sup>, Мамедов А.Э.<sup>1</sup>, Мамедов И.З.<sup>1</sup>, Тоневицкий А.Г.<sup>1</sup>, Габибов А.Г.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> *Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова  
Российской академии наук, Москва*

<sup>2</sup> *Central European Institute of Technology, Брно, Чехия*

<sup>3</sup> *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва*

\*e-mail: iraishina94@gmail.com

Определение аутоантигенных пептидов, презентруемых главным комплексом гистосовместимости второго класса (HLA II) при аутоиммунных патологиях, необходимо для понимания этиологии и патогенеза заболевания. Существуют различные подходы оценки вероятности презентации антигенов на HLA II класса, например фаговый или дрожжевой дисплей пептидных эпитопов, масс-спектрометрия пептидома, презентированного на HLA II, методы машинного обучения. В настоящей работе проводилась оценка связывания эпитопов HLA II из созданной ранее бактериофаговой библиотеки 44 членных аутоантигенных пептидов с молекулами HLA II в рекомбинантной растворимой форме. Поиск антигенов осуществлялся для аллелей HLA DRB1\*01:01, 04:01, 08:01, 15:01. Последовательности аутоантигенов, представленных на бактериофагах, связавшихся с белковым продуктом определенной аллели HLA II, были определены с помощью широкомасштабного секвенирования Illumina MiSeq. Анализ данных проводился с помощью программы MiXCR (<https://milaboratories.com/software>). Параллельно эта же библиотека аутоантигенов подвергалась виртуальному отбору с помощью on-line ресурса NetMHCIIpan (<https://services.healthtech.dtu.dk/>). Анализ результатов секвенирования с помощью NetMHCIIpan показал, что со каждым следующим раундом отбора фагового дисплея предсказанная аффинность отобранных пептидов к HLA II возрастает. Для валидации полученных результатов отдельные аутоантигенные эпитопы были получены в виде рекомбинантных белков и их связывание с продуктом анализируемой аллели HLA II было оценено методом иммуноферментного анализа. В результате данного исследования были найдены последовательности аутоантигенных пептидов, связывающихся с HLA II, потенциально играющих роль в развитии аутоиммунного ответа.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (РНФ) №17-74-30019.

## РАЗЛИЧИЯ В ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТКАХ КРОВИ ПРИ РАДИОЛОГИЧЕСКИ ИЗОЛИРОВАННОМ СИНДРОМЕ И РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ ПО ДАННЫМ ТРАНСКРИПТОМНОГО ПРОФИЛИРОВАНИЯ

**Козин М.С.**<sup>1,2\*</sup>, Баулина Н.М.<sup>1,2</sup>, Киселев И.С.<sup>1,2</sup>, Кабаева А.Р.<sup>1,3</sup>, Бойко А.Н.<sup>1,3</sup>, Фаворова О.О.<sup>1,2</sup>, Кулакова О.Г.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦК им. ак. Е.И. Чазова» Минздрава России, Москва

<sup>3</sup>ФГБУ «ФЦМН» ФМБА России, Москва

\*e-mail: kozinmax1992@gmail.com

Радиологически изолированный синдром (РИС) – нозологическая форма, при которой у пациентов при МРТ мозга обнаруживаются изменения, характерные для рассеянного склероза (РС), при отсутствии клинической симптоматики заболевания. Предполагается, что РИС можно рассматривать как субклиническую стадию РС, однако молекулярные механизмы, лежащие в основе РИС, недостаточно изучены.

С целью выявления сходства и различий в молекулярных механизмах развития РИС и РС мы провели сравнения профилей экспрессии генов в мононуклеарных клетках крови (МНК) больных РС, индивидов с РИС и здоровых индивидов контрольной группы (3 группы по 8 соответствующих по полу и возрасту человек). Полнотранскриптомное профилирование проводили методом высокопроизводительного секвенирования РНК с использованием набора MGIEasy RNA Library Prep Set (MGI) на секвенаторе MGISEQ-200. Выравнивание прочтений на референсный геном выполняли с помощью ПО STAR Version 2.7.6a. Анализ дифференциальной экспрессии генов проводили при помощи пакета DESeq2 для языка R.

При сравнении РИС с контролем выявлено 98 дифференциально экспрессирующихся генов, РС с контролем – 439. GO анализ показал разную степень вовлечения путей, связанных с развитием иммунного ответа, в формирование РИС и РС. При анализе взвешенных сетей коэкспрессии генов (WGCNA) в полученном наборе данных выделено 34 отдельных модуля коэкспрессии. Для каждого модуля рассчитан показатель *eigengene* и проведен анализ его корреляции с фенотипом. Наибольшей значимости достигала корреляция с РС модуля, включающего 172 гена. GO анализ этого модуля показал, что его биологические функции связаны с процессами окислительного фосфорилирования и работой электрон-транспортной цепи. Можно предположить, что при РС активация клеток иммунной системы требует увеличенного производства энергии по сравнению с РИС и здоровыми индивидами. Использование метода WGCNA позволило выявить особенности, характерные только для РС, которые не удалось наблюдать при прямом сравнении профилей экспрессии генов при РС и РИС.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ (№20-015-00073).

## ОСОБЕННОСТИ МУТАЦИОННОГО ЛАНДШАФТА РАКА ПОЛОСТИ РТА У МОЛОДЫХ ПАЦИЕНТОВ

**Колегова Е.С.\***, Щеголева А.А., Воробьев Р.С., Федорова И.К., Кульбакин Д.Е., Чойнзонов Е.Л., Денисов Е.В.

*Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск*

*\*e-mail: elenakolegova@oncology.tomsk.ru*

Плоскоклеточная карцинома полости рта (ПКПР) считается заболеванием пожилых людей. Однако на протяжении уже 40 лет наблюдается рост заболеваемости ПКПР среди пациентов моложе 45 лет. Наиболее частой причиной смертности таких больных является возникновение рецидивов в первый год после операции. При этом этиологические и патогенетические механизмы развития данного заболевания плохо изучены. В работе проведен анализ мутационного ландшафта ПКПР у молодых пациентов с целью поиска возможных генетических драйверов развития данного заболевания. В исследование было включено 7 некурящих и ВПЧ-негативных больных ПКПР стадии T2-3N1M0 (5 пациентов моложе 45 лет и 2 – старше 45 лет). Из образцов опухоли и периферической крови была выделена ДНК с помощью набора DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, США). Подготовка экзомных ДНК-библиотек проводилась с помощью технологии SureSelect XT v. 7.0 (Agilent, США), секвенирование выполнялось на платформе NextSeq 2000 (Illumina, США). У всех пациентов с ПКПР были обнаружены мутации типа однонуклеотидных замен (SNVs) и инсерций-делеций (indels) в гене *TP53*. У пациентов моложе 45 лет наблюдались SNVs в генах *CDKN2A*, *CASP8*, *RBM15*, *FAT1* и *CUL3*, ранее описанных как драйверы формирования плоскоклеточного рака головы и шеи. У молодых пациентов с ПКПР также часто встречались мутации в генах *MUC16*, *DNER*, *FOXRED2*, *CNOT1*, *MUC4*, *DST* и *LRGUK*. Помимо этого, у больных ПКПР моложе 45 лет обнаружены aberrации числа копий ДНК на хромосомах 2, 7, 11, 12, 14, 15, 20, 21 и 22 и мутационная сигнатура SBS5-SBS1, которые отсутствовали у пациентов старше 45 лет. Таким образом, полученные результаты указывают на специфические особенности мутационного ландшафта ПКПР у молодых пациентов по сравнению с возрастными больными и необходимость рассмотрения ранней формы данного рака в качестве отдельного молекулярного подтипа заболевания.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 22-15-00308) и при использовании оборудования Центра коллективного пользования «Медицинская геномика» Томского НИМЦ.

## ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ KLF2 И KLF4 В КОЛОНИЕФОРМИРУЮЩИХ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ И ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ КОРОНАРНОЙ АРТЕРИИ ЧЕЛОВЕКА

**Кутихин А.Г.<sup>1\*</sup>**, Великанова Е.А.<sup>1</sup>, Матвеева В.Г.<sup>1</sup>, Тупикин А.Е.<sup>2</sup>, Кабилов М.Р.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний», Кемерово

<sup>2</sup>ЦКП «Геномика» СО РАН, Новосибирск

\*e-mail: antonkutikhin@gmail.com

Одним из ключевых аспектов биосовместимости сосудистых протезов является соответствие физиологического профиля эндотелиальных клеток (ЭК), покрывающих их внутреннюю поверхность, таковому в нативных артериях. Тем не менее, до настоящего времени не было проведено исследований в отношении глобальной генной экспрессии колониеформирующих ЭК, дифференцированных из мононуклеарных клеток периферической крови (ЕСFC), и первичных ЭК коронарной артерии человека (НСАЕС). Для решения указанной научной задачи было проведено предварительное заселение культуральных проточных камер ЕСFC и НСАЕС, после чего данные камеры помещались в биореактор и опционально подвергались воздействию пульсирующего потока (5 дин/см<sup>2</sup>) в течение 48 часов с последующим выделением РНК и полнотранскриптомным секвенированием на базе ЦКП «Геномика» СО РАН.

В результате было выявлено, что ЕСFC и НСАЕС характеризуются совершенно различным генным ответом на поток (186 и 835 ДЭГов) при лишь 17 пересекающихся ДЭГов. При этом ЕСFC и НСАЕС дифференциально гиперэкспрессировали различные механочувствительные транскрипционные факторы (KLF4 и KLF2 соответственно), вероятно, вследствие гиперэкспрессии гена гистондеацетилазы HDAC5, подавляющей экспрессию гена KLF2, в ЕСFC в условиях потока. В сравнении с НСАЕС ЕСFC характеризовались более выраженной положительной регуляцией обеспечения целостности эндотелия, что указывает на перспективность их использования для заселения тканеинженерных сосудистых протезов малого диаметра.

Таким образом, в контексте оценки физиологического профиля ЭК в условиях потока дальнейшего изучения заслуживает интерактом механочувствительных транскрипционных факторов KLF2 и KLF4, а также дифференциальная регуляция их активности (в частности, при помощи гистондеацетилаз).

Работа выполнена в рамках ФТ НИИ КПССЗ № 0419-2021-001 при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках нацпроекта «Наука и университеты».

## АУТОИММУННАЯ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦИЯ ВЫЗЫВАЕТ СМЕЩЕНИЕ РЕПЕРТУАРА В-КЛЕТОЧНЫХ РЕЦЕПТОРОВ.

Ломакин Я.А.<sup>1</sup>, Кабилов М.Р.<sup>2</sup>, Овчинникова Л.А.<sup>1</sup>, Захарова М.Н.<sup>3</sup>, Звягин И.<sup>1</sup>, Тушкин А.Е.<sup>2</sup>, Белогуров А.А.<sup>1</sup>, Габибов А.Г.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва

<sup>2</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

<sup>3</sup>Научный центр неврологии, отделение нейрореабилитации, Москва

\*e-mail: yasha.l@bk.ru

Регуляторные функции В-лимфоцитов играют важную роль в развитии и подавлении иммунного ответа. Нарушение их противовоспалительной активности может привести к ряду иммунологических патологий, в частности к аутоиммунным заболеваниям. К сожалению, сегодня точный механизм функционирования и развития регуляторных В-клеток (Vreg) неизвестен. Почти ничего не известно о их специфичности и структуре их В-клеточного рецептора. В данной работе с использованием широкомасштабного секвенирования мы проанализировали репертуар В-клеточных рецепторов субпопуляции транзитных Vreg CD19(+)CD24(high)CD38(high) у пациентов с рассеянным склерозом (РС). Мы впервые показали, что при развитии РС тяжелая цепь иммуноглобулинов транзитных Vreg пациентов с высокоактивным РС (ВАРС) содержит меньшее количество гипермутаций по сравнению со здоровыми донорами. Количество транзитных Vreg повышено, тогда как частота дифференцированных CD27+ клеток среди них снижена у пациентов с РС по сравнению со здоровыми донорами. Причем у пациентов с ВАРС эта разница сильнее, чем у пациентов с доброкачественным течением РС (ДРС). Таким образом, возможно предположить, что изменение репертуара Vreg происходит уже на раннем этапе созревания В-клеток при развитии РС.

Исследования были проведены в рамках проекта РНФ 17-74-30019 «Структурные и кинетические особенности презентации антигенов как ключ к пониманию механизмов индукции аутоиммунных патологий и лимфоомогенезиса».

## ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: ИДЕНТИФИКАЦИЯ ОПУХОЛЕВЫХ И ГИБРИДНЫХ КЛЕТОК

**Меняйло М.Е.\***, Зайнуллина В.Р., Таширева Л.А., Герашенко Т.С., Алифанов В.В., Савельева О.Е., Григорьева Е.С., Чердынцева Н.В., Перельмутер В.М., Денисов Е.В.

НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН, Томск

\*e-mail: [tax89me@yandex.ru](mailto:tax89me@yandex.ru)

Метастазирование инициируется опухолевыми клетками, отделившимися от первичной опухоли и попавшими в кровоток. Циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) и опухолевые гибридные клетки (ОГК) являются ведущими участниками метастазирования. ЦОК и ОГК обычно идентифицируются как CD45-отрицательные (CD45<sup>-</sup>) и CD45-положительные (CD45<sup>+</sup>) циркулирующие эпителиальные клетки (ЦЭК) [1, 2]. Однако такой подход малоэффективен, поскольку ЦЭК обнаруживаются в крови здоровых людей [3, 4]. В этом исследовании мы использовали секвенирование РНК отдельных клеток для профилирования CD45<sup>-</sup> и CD45<sup>+</sup> ЦЭК у пациентов с нематастатическим раком молочной железы и здорового донора и идентификации ЦОК и ОГК посредством анализа ploидности ДНК. Функциональное аннотирование дифференциально-экспрессирующихся клеток применяли для характеристики анеуплоидных и диплоидных клеток. Диплоидные клетки были проанализированы на наличие аберраций числа копий (CNA) генов, чтобы подтвердить или опровергнуть их опухолевое происхождение. CD45<sup>-</sup> и CD45<sup>+</sup> ЦЭК были обнаружены как у больных, так и у здорового донора и представлены транскрипционно различными популяциями. Среди CD45<sup>-</sup> ЦЭК больных две популяции были преимущественно анеуплоидными, тогда как другая популяция содержала больше диплоидных, чем анеуплоидных клеток. CD45<sup>+</sup> ЦЭК в основном были представлены диплоидными клетками, аннотированными как различные иммунные клетки, но неожиданно содержали много CNA. Опухоль-ассоциированные сигнальные пути были обнаружены только в одной анеуплоидной популяции CD45<sup>-</sup> ЦЭК, которая может представлять агрессивную субпопуляцию ЦОК. Таким образом, CD45<sup>-</sup> и CD45<sup>+</sup> ЦЭК крайне гетерогенны и включают как диплоидные, так и анеуплоидные клетки, которые, вероятно, являются ЦОК и ОГК, соответственно.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №19-75-300160).

1. M. Yu et al. (2013) Circulating breast tumor cells exhibit dynamic changes in epithelial and mesenchymal composition. *Science*, **339**: 580-584.

2. L.A. Aguirre et al. (2020) Tumor stem cells fuse with monocytes to form highly invasive tumor-hybrid cells. *Oncoimmunology*, **9**: 1773204.

3. W.J. Allard et al. (2004) Tumor Cells Circulate in the Peripheral Blood of All Major Carcinomas but not in Healthy Subjects or Patients With Nonmalignant Diseases. *Clin. Cancer Res.*, **10**: 6897-6904.

4. M.B. Lustberg et al. (2014) Heterogeneous atypical cell populations are present in blood of metastatic breast cancer patients. *Breast Cancer Res.*, **16**: R23.



## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИСЕКЦИЯ СПЕРМАТОГЕНЕЗА В МУЛЬТИЭТНИЧЕСКИХ РОССИЙСКИХ ПОПУЛЯЦИЯХ НА ОСНОВЕ ПОЛНО-ЭКЗОМНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

**Осадчук А.В.<sup>1\*</sup>**, Васильев Г.В.<sup>1</sup>, Иванов М.К.<sup>2</sup>, Клещев М.А.<sup>1</sup>, Осадчук Л.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

<sup>2</sup>АО "Вектор-Бест", Новосибирск

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

Глобальный тренд снижения репродуктивного потенциала мужского населения, наблюдаемый во многих странах мира, в том числе и в России, ставит задачу выяснения ее генетических механизмов. Мы представляем здесь первое российское полно-экзомное исследование с целью идентификации новых генов, ассоциированных со сперматогенезом.

Экспериментальный дизайн исследования основан на анализе образцов ДНК от трех этнических групп - славян, бурят и якутов и двух групп, контрастных по качеству спермы, - патозооспермии и нормоспермии. Образцы ДНК секвенировались на платформе Illumina NextSeq 550. Захват экзома осуществлялся с помощью Illumina TruSeq DNA Library Prep for Enrichment с XGen® Exome Research Panel v1.0, а секвенирование - с помощью NextSeq 500/550 High Output Kit v2.5. Последующие этапы генотипирования и фильтрации полиморфизмов выполнялись в соответствии с рекомендациями GATK Best Practices. На этапе генотипирования образцы объединялись в четыре когорты: три соответствовали трем этническим группам, а четвертая включала все экзомы для анализа аддитивных генетических эффектов.

Отобраны десять потенциальных SNP-маркеров восьми генов FAM71F1, PPP1R15A, TEX11, TRIM45, PRAME, RBM47, WDFY4 и FSIP2, которые экспрессируются в семенниках и играют важную роль в клеточной пролиферации, мейозе и апоптозе. Для каждого SNP с помощью анализа ANOVA установлена координированная и аддитивная межаллельная изменчивость ключевых показателей сперматогенеза: концентрации, общего количества, подвижности и морфологии сперматозоидов.

Проведенная на всей выборке, состоящей из более чем 1500 испытуемых, верификация трех SNP-маркеров: rs6971091 гена FAM71F1, rs557806 гена PPP1R15A и rs4844247 гена TEX11, имеющих по данным полно-экзомного анализа аддитивные (независящие от этноса) эффекты на качество спермы, показала сложный трехфакторный паттерн их взаимодействия, включающий аллельный полиморфизм SNP-маркеров, качество спермы и этническую принадлежность. Установлено, что ассоциация всех трех SNP-маркеров с качеством спермы существенно модулируется этнической принадлежностью. Выявлены высокодостоверные межэтнические различия по аллельной частоте всех генетических маркеров, которые коррелировали с показателями сперматогенеза.

Анализ результатов полно-экзомного секвенирования позволил обнаружить новые гены как с общими, так и этноспецифическими эффектами, детерминирующими не только нарушения сперматогенеза, но и его повышенную активность. Нами продемонстрирована межэтническая координированная генетическая изменчивость по всем трем SNP-маркерам, относительно высокая частота аллельных вариантов которых оказалась сосредоточена в восточных этносах – бурятах и якутов, что может является причиной их сниженного мужского репродуктивного потенциала по сравнению со славянским этносом.

Исследование поддержано грантом РФФ № 19-15-00075.

## ТРАНСКРИПТОМНЫЙ ПРОФИЛЬ МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ЧЕЛОВЕКА В ДИНАМИКЕ ПРОВЕДЕНИЯ ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

Патышева М.Р.<sup>1,2\*</sup>, Ларионова И.В.<sup>1,2,3</sup>, Ямщиков П.С.<sup>2</sup>, Григорьева Е.С.<sup>1</sup>, Стахеева М.Н.<sup>1</sup>, Тарабановская Н.А.<sup>1</sup>, Чердынцева Н.В.<sup>1,2</sup>, Кжышковска Ю.Г.<sup>1,2,3,4</sup>.

<sup>1</sup>Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, Томск

<sup>2</sup>Томский Государственный Университет, Томск

<sup>3</sup>Сибирский Государственный Медицинский Университет, Томск

<sup>4</sup>Медицинский Факультет Университета Гейдельберга, Манхайм, Германия

\*e-mail: Patysheva\_mr@onco.tnims.ru

Опухолеассоциированные макрофаги (ОАМ) выполняют функцию регуляции опухолевого микроокружения, способствуя развитию и прогрессированию многих солидных опухолей. Моноциты крови, как основные предшественники ОАМ, могут программироваться опухолью и изменяться при проведении химиотерапевтического лечения (ХТ) на уровне транскрипции генов. В настоящий момент ведется поиск новых молекулярных мишеней для иммунотерапевтических воздействий. Целью работы был поиск особенностей транскриптомного профиля моноцитов крови пациенток с раком молочной железы (РМЖ) до и после предоперационной химиотерапии. В работе было проведено исследование транскриптома с помощью массового параллельного РНК-секвенирования моноцитов 9 пациенток с РМЖ до лечения и после 4-х курсов предоперационной ХТ, а также 7 здоровых женщин в качестве группы контроля. С помощью анализа методом главных компонент было отмечено отличие транскриптома моноцитов больных РМЖ от здоровых женщин. При РМЖ была обнаружена повышенная экспрессия генов *DDIT4*, *THBD*, *PLIN2*, *JUN*, *MAFB*, *SIGLEC1*, *ABCA1*, *CXCR4* и *MX1* ( $\log_2FC \geq 0,58$ ,  $FDR \leq 0,05$ ), а также экспрессия гена *CD163* ( $\log_2FC = 0,54$  и  $p\text{-adj} = 0,036$ ), ассоциированного с проопухолевой поляризацией ОАМ. Проведение ХТ повлияло только на изменение экспрессии отдельных генов, но не показало различий с помощью анализа методом главных компонент, что может быть обусловлено гетерогенностью реакций на ХТ для каждой пациентки. Так после ХТ был отмечен повышенный уровень транскриптов генов *HBB*, *ABCA2*, *QARS1*, *CDK6*, *CIAPIN1*, *UCK1*, *MGLL* ( $\log_2FC \geq 0,58$ ,  $FDR \leq 0,05$ ). Таким образом, отмечена способность РМЖ модулировать транскриптом моноцитов, что позволяет проводить дальнейшие исследования найденных маркеров на расширенной выборке пациенток.

Работа была поддержана государственной программой Министерства науки и высшего образования Российской Федерации «Генетическое и эпигенетическое редактирование опухолевых клеток и микроокружения с целью блокирования метастазирования» № 075-15-2021-1073.

## АНАЛИЗ ГЕРМИНАЛЬНЫХ МУТАЦИЙ У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНО-МНОЖЕСТВЕННЫМИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ В КОМБИНАЦИИ РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И/ИЛИ ЯИЧНИКОВ

Савкова А.В.<sup>1, 2</sup>, Гуляева Л.Ф.<sup>1</sup>, Кудрявцева А.В.<sup>3</sup>, Пудова Е.А.<sup>3</sup>, Герасимов А.В.<sup>1</sup>, Красильников С.Э.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины, Новосибирск

<sup>2</sup>Национальный медицинский исследовательский центр им. ак. Е.Н. Мешалкина Минздрава России, Новосибирск

<sup>3</sup>Институт молекулярной биологии имени В. А. Энгельгарда РАН, Москва

\*e-mail: alivsesav@gmail.com

Первично множественные злокачественные новообразования (ПМЗН) характеризуются развитием нескольких неметастатических злокачественных опухолей в течение жизни у одного пациента. Заметный вклад в развитие ПМЗН вносят патогенные аллельные варианты некоторых генов, носительство которых повышает риск развития опухолей определенных типов. Мы оценили частоту вариантов *BRCA1 185delAG*, *BRCA1 T300G*, *BRCA1 2080delA*, *BRCA1 4153delA*, *BRCA1 5382insC*, *BRCA2 6174delT*, *CHEK2 1100delC*, *BLM C1642T*, связываемых с синдромом наследственного рака молочной железы и яичников (НВОС-синдромом) для 60-ти пациенток с ПМЗН, имевших рак молочной железы (РМЖ) и/или яичников (РЯ). Семейный анамнез составлен со слов пациентов. Морфологический диагноз установлен при гистологическом исследовании. ДНК выделяли из венозной крови фенол-хлороформным методом. Таргетное секвенирование осуществляли на панели TruSight Cancer Illumina. Качество прочтения оценивали в FastQC. Геном GRCh37.75/hg19 использовался как эталонный. Оценка качества секвенирования и детекция SNP проводилась с помощью dbSNP и GATK4 HaplotypeCaller. Патогенные аллельные варианты присутствовали в геноме 9 пациентов (15 % выборки): семь *BRCA1 5382insC*, один *BRCA1 4153delA* и один *BRCA1 T300G*. Три пациентки этой группы имели три опухоли, и шесть – две. У пяти семейный анамнез был отягощен опухолями НВОС-спектра. Во всех случаях РМЖ являлся инфильтрирующим протоковым раком, РЯ – инвазивной серозной карциномой умеренной или высокой степени злокачественности. Такие типы опухолей развиваются у носителей патогенных *BRCA1* вариантов в 80 и 67 % случаев соответственно [1]. Таргетное секвенирование нескольких ключевых участков генов, связываемых с НВОС-синдромом, для лиц, имеющих отягощенный семейный анамнез и опухоли определенных гистологических типов, - важный инструмент для ранней диагностики новых опухолей и успешного лечения пациентов с применением таргетных препаратов.

1. Nasim Mavaddat et al. (2012) Pathology of breast and ovarian cancers among *BRCA1* and *BRCA2* mutation carriers: results from the Consortium of Investigators of Modifiers of *BRCA1/2*, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, **21(1)**: 134–147.

АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА rs74797959 ГЕНА *ADAMTS14* В ЯКУТСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ  
Сивцева Т.М.<sup>1\*</sup>, Шатунов А.Ю.<sup>1,2</sup>, Кабилов М.Р.<sup>3</sup>, Батурина О.А.<sup>3</sup>, Гольдфарб Л.Г.<sup>4</sup>,  
Ренвик Н.<sup>4</sup>, Охотина М.М.<sup>1</sup>, Осаковский В.Л.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Научно-исследовательский центр Медицинского института СВФУ, Якутск

<sup>2</sup>University of Liverpool, Dept Molecular and Clinical Pharmacology, Liverpool, L693BX United Kingdom

<sup>3</sup>Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск

<sup>4</sup>Королевский университет в Кингстоне, Канада

\*e-mail: tm.sivtseva@s-vfu.ru

Протеазы семейства дезинтегрин и металлопротеиназы с тромбоспондиновыми мотивами *ADAMTS* играют значительную роль в организации внеклеточного матрикса головного мозга и соединительной ткани в организме человека. По данным полноэкзомного секвенирования вариант rs74797959 гена *ADAMTS14* может быть ассоциирован с заболеванием центральной нервной системы, выявляемым только у коренных жителей Якутии – виллойским энцефаломиелитом (ВЭ) [1]. Целью работы было провести анализ распространенности данного варианта в якутской популяции среди здоровых и больных ВЭ для выявления связи с заболеванием.

Нами проведен биоинформатический анализ ранее проведенного экзомного секвенирования ДНК образцов, полученных от восьми пациентов с ВЭ и восьми неврологически здоровых контролей. Для биоинформатического анализа использовали референсный геном человека GRCh38 сборки. Выравнивание было сделано программой *bwa-mem* с настройками «по умолчанию». Контроль качества секвенирования выполнен с помощью программ *fastqc*, *peddy*, *bcftools*, *kallisto*, *samtools* с последующей визуализацией параметров в *multiqc*. Для аннотация выявленных вариаций генома использовали программу *snpeff* в комбинации с базой данных VEP.

Для подтверждения найденного с помощью секвенирования нового поколения аллеля исследовали дополнительные 82 образца ДНК, полученные от 41 больных ВЭ и 41 – от неврологически здоровых пациентов якутской национальности методом секвенирования по Сэнгеру. Статистический анализ данных выполнен в R.

Биоинформатический анализ данных экзомного секвенирования подтвердил выявление у больных ВЭ варианта rs74797959 в третьем экзоне гена *ADAMTS14* в позиции с.С574Т, приводящий к замене аргинина на триптофан в аминокислотной последовательности белка в позиции 192 (R192W). Редкий аллель «Т» выявлен у пяти больных ВЭ из восьми обследованных, в то время как в контрольных образцах вариант «Т» выявлен не был. Данные секвенирования по Сэнгеру показали высокую частоту минорного аллеля «Т» в обследованных образцах: в группе больных ВЭ – 13,6%; в контрольной группе – 12,5%. В других восточно-азиатских популяциях этот вариант достаточно редок и, согласно данным gnomADv2.1.1 (<https://gnomad.broadinstitute.org>), выявлен у 2.2% населения. В европейской популяции частота аллели «Т» ещё ниже, и составляет 0.05%. Статистический анализ методом Chi-квадрат не выявил ассоциации между частотой редкой аллели «Т» маркера rs74797959 и ВЭ (относительный риск = 0.99, нижний доверительный интервал = 0.87, верхний доверительный интервал = 1.12).

Высокая частота аллели «Т» маркера в гене *ADAMTS14* в якутской популяции, скорее всего не связана с заболеванием виллойский энцефаломиелит, а свидетельствует о позитивном эволюционном отборе в пользу данного варианта во время адаптации якутской популяции к проживанию в экстремальных условиях Севера.

Работа выполнена в рамках ГЗ МинОбрНауки «Широкогеномные исследования генофонда коренного населения арктического побережья Якутии» (FSRG-2020-0016).

## ИЗМЕНЕНИЯ ТРАНСКРИПТОМОВ КОРЫ МОЗГА И ГИППОКАМПА КРЫС OXYS В РАННИЙ ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД КАК ПРЕДПОСЫЛКА РАЗВИТИЯ ПРИЗНАКОВ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

**Стефанова Н.А.\***, Колосова Н.Г.

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск*

*\*e-mail: stefanovan@mail.ru*

Исследования последних лет с использованием современных методов диагностики подтвердили, что доклинический период спорадической (>95% случаев) формы болезни Альцгеймера (БА) может продолжаться десятилетиями, но вопрос о том, когда начинает развиваться заболевание и что этому способствует, остается открытым. Результаты немногочисленных эпидемиологических и экспериментальных исследований, указывают на то, что уже в ранний постнатальный период жизни, когда завершается развитие мозга, могут формироваться предпосылки к ускоренному старению - основному фактору риска развития БА. Результаты нашей работы на преждевременно стареющих крысах OXYS – уникальной модели спорадической формы БА - подтвердили справедливость этой гипотезы. Анализ транскриптомов (данных RNA-seq) гиппокампа и префронтальной коры мозга крыс OXYS (контроль – крысы Вистар) в ранний постнатальный период (в возрасте P3 и P10) позволил выявить метаболические пути и процессы, изменения в которых вносят вклад в задержку созревания мозга крыс OXYS. Результаты биоинформатического анализа показали, что в P3 и P10 у крыс OXYS количество дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) было более 1000 в обеих структурах мозга (Padj < 0.05); изменения экспрессии более 200 из них были однонаправленными в гиппокампе и коре мозга в обеих возрастных точках. Функциональная аннотация ДЭГ свидетельствует о сниженной эффективности формирования межнейронных контактов, недостаточности астроцитарной и микроглиальной поддержки, функций митохондрий, задержке ангиогенеза. Сравнение этих результатов с результатами ранее проведенного анализа транскриптомов гиппокампа и префронтальной коры мозга в период, предшествующий развитию признаков БА (возраст 20 дней), в период их манифестации (5 мес.) и активной прогрессии (18 мес.) позволил впервые оценить на модели спорадической формы БА молекулярно-генетические предпосылки и механизмы развития заболевания на всех его стадиях. Выявлено три гена *Thoc3*, *Exosc8* и *Smpd4*, экспрессия которых повышена в гиппокампе и коре мозга крыс OXYS в возрасте 3, 10 и 20 дней, 5 и 18 мес. В целом, результаты позволяют предполагать, что отклонения в процессе развития мозга могут быть предикторами развития признаков БА у крыс OXYS и, возможно, БА у людей.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФ (проект 19-15-00044п).

## ПАТТЕРНЫ АЛЬТЕРНАТИВНОГО СПЛАЙСИНГА В ДЕЦИДУАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ ПЛАЦЕНТЫ ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ

**Трифонова Е.А.\***, Гавриленко М.М., Бабовская А.А., Зарубин А.А., Сваровская М.Г., Степанов В.А.

*Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра, г. Томск, 634050.*

*\*e-mail: ekaterina.trifonova@medgenetics.ru*

Альтернативный сплайсинг (АС) РНК – ключевой этап посттранскрипционной регуляции экспрессии генов, который обеспечивает пластичность транскрипции и контроль экспрессии изоформ РНК в данный момент времени в определенном типе тканей и клеток. Предположительно, этот механизм играет важную роль в развитии и функционировании плаценты. Несмотря на всесторонний анализ АС пре-мРНК во многих тканях и клетках человека в норме и при патологии, ранее не проводился глобальный скрининг изменений альтернативного сплайсинга как в целом в плацентарной ткани, так и в отдельных клеточных популяциях, формирующих ее. В исследовании проведено глубокое полнотранскриптомное секвенирование с детальным анализом событий альтернативного сплайсинга в децидуальных клетках (ДК) плацентарной ткани при физиологическом течении беременности. Данные клетки были выбраны в качестве объекта исследования в настоящей работе исходя из представлений об их ключевой роли как в поддержании физиологической беременности, так и в развитии ее неблагоприятных исходов, что связано с участием ДК в процессах имплантации, гемостаза, инвазии трофобласта, воспалении и иммунном ответе.

В ДК идентифицированы 149067 событий АС, аннотированных в GENCODE v.26, в 20463 генах, из которых 4038 генов характеризовались 10-ю и более изоформами. Функциональная аннотация кластера генов, характеризующихся экспрессией пяти и более транскриптов в ДК, демонстрируют их сверхпредставленность в процессах, связанных с каноническим сигнальным путем Wnt/ $\beta$ -катенин, регуляцией сплайсинга мРНК, убиквитинирования и участием в межклеточной коммуникации, а также в механизмах эпителиально-мезенхимального перехода. Анализ реконструированной геновой сети продемонстрировал высокую степень взаимодействий альтернативно сплайсированных генов и позволил выявить регуляторные связи, обеспечивающие координированную экспрессию большинства центральных генов, которые ассоциированы с инициацией и элонгацией трансляции у эукариот, а также модуляцией ангиогенеза и адгезии клеток, опосредованной DE-кадгерином.



## МУТАЦИОННЫЙ ПРОФИЛЬ НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНОГО РАКА ЛЕГКОГО С ВЫСОКИМ РИСКОМ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ И РЕЦИДИВИРОВАНИЯ

Хозяинова А.А.\*, Щеголева А.А., Геращенко Т.С., Воробьев Р.С., Родионов Е.О.,  
Панкова О.В., Перельмутер В.М., Денисов Е.В.

НИИ онкологии Томского НИМЦ РАН, Томск

\*e-mail: muhteshemka@gmail.com

Различные сочетания предопухолевых изменений в эпителии мелких бронхов в удалении от первичной опухоли ассоциированы с риском прогрессирования немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ). Так, наличие изолированной базальноклеточной гиперплазии (ИБКГ) связано с высокой частотой гематогенного метастазирования, а сочетание БКГ и плоскоклеточной метаплазии (ПМ) – с высокой вероятностью рецидивирования НМРЛ [1, 2]. Причины, обуславливающие высокий риск прогрессирования НМРЛ у больных с различными сочетаниями предопухолевых изменений, неизвестны. Целью исследования явилось изучение соматических генетических нарушений у больных НМРЛ с высоким риском прогрессирования. В исследование включены 59 больных, разделенных на 3 группы: 1) пациенты с ИБКГ и высоким риском гематогенного метастазирования; 2) пациенты с сочетанием БКГ и ПМ и высоким риском локорегионарного рецидивирования; 3) пациенты без предопухолевых изменений. Образцы ДНК выделяли из свежесзамороженных образцов опухолевой ткани легкого и периферической крови с последующей подготовкой полноэкзомных библиотек набором SureSelect XT Human All Exon v. 7. Секвенирование проводили на платформе NextSeq 500. Биоинформатический анализ данных выполняли с помощью пайплайна GATK и инструмента CNVkit. В результате исследования для пациентов с высоким риском метастазирования обнаружены специфичные нарушения в генах-регуляторах синтеза интерлейкинов, дифференцировки Т-хелперов и защитной реакции на грамотрицательные бактерии. Функциональное аннотирование генов, специфичных для больных с высоким риском рецидивирования, выявило их вовлеченность в процессы экзоцитоза и клеточной адгезии. Таким образом, обнаруженные особенности мутационного профиля подтверждают правомочность стратификации больных НМРЛ по типу предопухолевых изменений в эпителии бронхов и могут лежать в основе прогрессирования данного заболевания.

Исследование выполнено за счет гранта РНФ (проект № 20-75-10060).

1. O.V. Pankova et al. (2016) Recurrence of squamous cell lung carcinoma is associated with the co-presence of reactive lesions in tumor-adjacent bronchial epithelium, *Tumour Biol.* **37**:3599-607.

2. O.V. Pankova et al. (2021) Premalignant Changes in the Bronchial Epithelium Are Prognostic Factors of Distant Metastasis in Non-Small Cell Lung Cancer Patients, *Front Oncol.* **11**:771802.



## МУТАЦИИ ГЕНА *PALB2* В ОПУХОЛИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: СВЯЗЬ С ЭФФЕКТИВНОСТЬЮ НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ И ПРОГНОЗОМ ЗАБОЛЕВАНИЯ

**Цыганов М.М.\***, Ибрагимова М.К., Хозяинова А.А., Литвяков Н.В.

*Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск*

*\*e-mail: TsyganovMM@yandex.ru*

В настоящее время сложно сказать о клинической значимости наличия мутаций и хромосомных aberrаций в гене *PALB2* в опухоли молочной железы (РМЖ). Целью данной работы явилось оценка CNA и мутаций гена *PALB2* в опухоли молочной железы и их предиктивного и прогностического потенциала.

В исследование включено 66 больных РМЖ IIА–IIIВ стадии. Микроматричное исследование опухолевых образцов проводили на ДНК-чипах высокой плотности Affymetrix CytoScan™ HD Array. Оценку мутаций гена *PALB2* в опухоли и крови пациентов проводили при помощи секвенирования на приборе MiSeq™ Sequencing System (Illumina, USA) с использованием панели «Accel-Amplicon *BRCA1*, *BRCA2*, and *PALB2* Panel» (Swift Biosciences, USA).

Установлено, что показатели 5-летней выживаемости в группе больных с делецией *PALB2* составляют 100%, против 83% в группе с амплификацией и 68% в группе с нормальной копийностью (log-rank test  $p=0,04$ ). В результате анализа мутаций, было обнаружено 27 мутаций, охватывающие со 2 по 12 экзоны, в основном сосредоточенные в 8 экзоне. У всех пациентов при элиминации в процессе НХТ делеции со сдвигом рамки считывания с.2552delA (p.Asn851fs) наблюдается объективный ответ на лечение, тогда как при появлении данной мутации, у одного пациента наблюдается стабилизация. Также у пациентов с объективным ответом на лечение были обнаружены мутации с.1706\_1707del (p.Lys569fs), с.1706delA (p.Lys569fs) и с.1288delC (p.Gln467fs). Кроме этого, в опухоли до лечения чаще всего встречались несинонимичные замены (15 из 66 пациентов). Мутация с.1676A>G (p.Gln559Arg) встречалась у 12 пациентов, из них у 4 больных наблюдалась полная и частичная регрессия, у 8 - стабилизация и прогрессирование. Все выявленные миссенс мутации (с.2993G>A; с.2014G>C; с.1010T>C) наблюдались у пациентов с прогрессированием опухоли. Но только с.1010T>C имеет патогенетическую значимость. Наличие мутаций в гене *PALB2* не связано с показателями БМВ.

В настоящее время имеется мало данных о влиянии нарушений в гене *PALB2* на эффективность лечения и прогноз заболевания, но при этом исследование данного гена имеют большой потенциал для проведения тестирования, ориентированного на диагностику, профилактику и персонализированный подход к лечению.

Работа поддержана грантом РФФ 22-15-00169

## TRANSCRIPTOME PROFILING AND GENOME-WIDE DNA METHYLATION ANALYSIS IN HYPERTROPHIC CARDIOMYOPATHY

**Kiselev I.S.<sup>1\*</sup>**, Kozin M.S.<sup>1</sup>, Baulina N.B.<sup>1</sup>, Pisklova M.V.<sup>1</sup>, Baturina O.A.<sup>2</sup>, Kabilov M.R.<sup>2</sup>, Zotov A.S.<sup>1,3</sup>, Chumakova O.S.<sup>1,4</sup>, Zateyshchikov D.A.<sup>1,4</sup>, Favorova O.O.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*E.I. Chazov National Medical Research Center of Cardiology, Moscow*

<sup>2</sup>*Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk*

<sup>3</sup>*Federal Research Clinical Center for Specialized Types of Healthcare and Medical Technologies, Moscow*

<sup>4</sup>*Central State Medical Academy of Department of Presidential Affairs, Moscow*

\**e-mail: kiselev.ivan.1991@gmail.com*

Hypertrophic cardiomyopathy (HCM) is the most frequent inherited cardiac disease with significant phenotypic heterogeneity. According to current literature, in addition to classic sarcomeric genes, other genes contribute to the HCM phenotype formation, but there is still limited progress in defining them. To identify such modifier genes for HCM, the pairwise analyses of transcriptome and DNA methylome in hypertrophic heart tissue of HCM patients and patients with aortic stenosis (AS, the comparison group) were performed.

Samples of left ventricular tissue were obtained from 8 HCM patients (mean age  $55.0 \pm 12.7$  years, women 50%) and 5 AS patients (mean age  $64.0 \pm 9.5$  years, women 20%) during myoseptectomy or aortic valve surgery, respectively. All patients gave written consent to participate in the study. Genome-wide DNA methylation analysis was performed using Illumina MethylationEPIC arrays, transcription profiling – using RNA-seq.

Transcriptome profiling revealed 193 differentially expressed genes (DEGs) ( $pFDR < 0.05$ ). 77% of them were downregulated in HCM. DNA methylation analysis revealed 1755 differentially methylated positions (DMPs) (raw  $p < 0.01$ ,  $\Delta\text{Beta} > 0.05$ ) distinguishing HCM from AS; 78% were hypomethylated in HCM. 63% of DMPs were located in/near known genes. Expression levels of 8 DEGs, namely *ANKRD33B*, *AUTS2*, *BRSK2*, *CBFA2T3*, *GIGYF1*, *HIVEP3*, *PRRT1*, and *SLC17A*, significantly correlated with methylation levels of neighboring DMPs ( $p = 0.0046-0.038$ ).

Enrichment analysis showed that the majority of Gene Ontology gene sets, overrepresented by both DEGs and DMP-containing genes, are associated with regulation of locomotion and cell motility, as well as with circulatory system development.

We hypothesize that epigenetically regulated DEGs may act as HCM modifiers contributing to hypertrophic changes in myocardium and affecting its vascularization.

This research was funded by the Russian Science Foundation, grant 20-15-00353.

## Авторский указатель

- Абакумов Е.В. 63  
Абрамов В.Г. 43  
Аликина Т.Ю. 69, 70, 71, 73, 77  
Алифанов В.В. 104  
Андреева И.С. 68, 71  
Андреевкова О.В. 58  
Андронов Е.Е. 62  
Анисименко М.С. 92  
Антонец Д.В. 66, 75  
**Арзуманян В.А. 90**  
Астахова Е.М. 68  
Аськеев А.О. 82  
Аськеев И.В. 82  
Аськеев О.В. 82  
Асякина Л.К. 74  
Афонин А.М. 62  
Афонюшкин В.Н. 54  
**Аюпова Г.Р. 91**  
Бабенко В.В. 86  
Бабовская А.А. 110  
**Баранова М.Н. 47**  
**Баттулин Н.Р. 38**  
Батурина О.А. 49, 54, 69, 70, 71, 108  
Баулина Н.М. 100  
Бауэр Т.В. 75  
Белан Б.Д. 68, 71  
**Белогуров А.А. 26, 103**  
Белых О.И. 61  
**Бикчурина Т.И. 80**  
Биялов А.И. 85  
Богатыренко Е.А. 72  
**Богданова В.С. 23**  
Бойко А.Н. 100  
Болдырева Д.И. 86  
**Большаков А.Д. 39**  
Большева Н.Л. 19  
Бондарь А.А. 29  
**Борисова М.А. 92**  
Боробова В.С. 40  
Боровиков И.А. 41  
Борхерт Е.В. 19  
Бочарова А.В. 93  
Боярских У.А. 40  
**Брюханов А.Л. 60**  
Букин Ю.С. 67  
Буян А.И. 27  
Вагайцева К.В. 93  
Васильев Г.В. 23, 58, 105  
Великанова Е.А. 102  
Виноградова Е.Н. 76  
Винокурова А.С. 51  
Власов В.В. 31  
Воробьев Р.С. 101, 111  
Воробьева М.А. 32  
Воробьева Н.В. 82  
Вяткин Ю.В. 42, 75  
Габибов А.Г. 47, 56, 99, 103  
Гавриленко М.М. 110  
Гагинская Е.Р. 81, 83  
Газизова Г.Р. 85  
Галачьянц А.Д. 61  
Галкина С.А. 81, 83  
Галямина А.Г. 84  
Гаранин А.Ю. 92  
Генерозов Э.В. 86  
Герасимов А.В. 107  
Геращенко Т.С. 104, 111  
**Гладков Г.В. 62**  
Гладышев В.Н. 27  
Глулов В.В. 73  
Гольдфарб Л.Г. 108  
Горшкова А.В. 61  
Горшкова С.А. 51  
Грабовенко Ф.И. 28  
Григорьева Е.С. 104, 106  
Гризанова Е. В. 53  
Грунтенко Н.Е. 58  
Грядунев Д.А. 51  
Гуляева Л.Ф. 107  
Гусев О.А. 85  
**Давидьян А.Г. 81, 83**  
**Давлетшина Г.И. 82, 87, 88**  
Давыдов А.Н. 99  
**Дворянинова Е.М. 19**  
Дементьева Е.И. 51  
**Демин А.Г. 81, 83**  
Денисов Е.В. 101, 104, 111  
**Децура А.Е. 63**  
Дмитриев А.А. 19, 21  
**Дмитриев С.Е. 27**  
Довыденко И.С. 45  
Дубовский И. М. 53  
Дункай Т.И. 72  
Дырхеева Н.С. 98  
Евграфова С.Ю. 49, 63  
**Евсеев П.В. 48**  
Егоров А.А. 27  
Желанкин А.В. 86, 94  
Жиянов А.П. 99  
**Журавлев Е.С. 31, 95**  
Журман В.Н. 96  
Зайнуллина В.Р. 104  
Закиян С.М. 98  
**Зарипова А.Р. 97**  
Зарубин А.А. 110  
**Заушинцена А.В. 64**  
**Захаренко А.Л. 98**  
Захарова М.Н. 103  
Захарова М.Ю. 99  
Зверев А.А. 63  
**Зверева М.Э. 28, 57**  
Звягин И. 103  
Зименс Е.А. 61  
Ибрагимова М.К. 112  
Иванов М.К. 105

Игнатов А.Н. 48  
 Игнатов К.Б. 92  
 Изотова А.О. 76  
**Ишина И.А. 99**  
 Кабаева А.Р. 100  
**Кабилев М.Р. 30, 32, 39,**  
 49, 54, **65,** 67, 69, 70, 71,  
 73, 77, 87, 98, 102, 103,  
 108  
 Кадников В.В. 60  
**Кадуцкий В.К. 49**  
 Казанцев А.Н. 55  
 Казанцева О.А. 50, 55  
**Каманова Е.П. 66, 75**  
**Кандинов И.Д. 51**  
 Каныгина А.В. 86  
 Каропова Е.Д. 41  
 Карташов М.Ю. 68  
 Касьянов А.С. 20  
 Качмазов Г.С. 76  
**Кечин А.А. 40**  
 Кжышковска Ю.Г. 106  
 Ким А.В. 72  
 Кимеклис А.К. 62  
 Киселев И.С. 100  
 Кичко А.А. 62  
 Клементьева Т.Н. 73  
 Клещев М.А. 105  
 Клименко А.И. 58  
 Коваленко И.Л. 84  
 Коваленко С.П. 92  
**Козин М.С. 100**  
 Козлов А.С. 71  
**Козлова А.П. 52**  
**Козлова О.С. 85**  
**Колегова Е.С. 101**  
**Колосова Е.А. 29**  
 Колосова Н.Г. 109  
 Комиссаров А.Б. 95  
 Копосова О.Н. 55  
 Коренская А.Е. 58  
 Корженков А.А. 76  
 Королев М.А. 32  
 Косман Е.С. 75  
 Костерин О.Э. 23  
 Котова Е.С. 86  
 Кравцов Д.В. 51  
 Краморенко Н.В. 44  
 Красильников С.Э. 107  
 Краснопеев А.Ю. 61  
 Кривобоков Л.В. 49  
 Кривопапов А.В. 77  
**Крыцына Т. И. 53**  
 Крюков В.Ю. 73, 77  
 Куджаев А.М. 47  
 Кудрявцева А.В. 107  
 Кудрявцева Н.Н. 84  
 Кудряева А.А. 26  
 Кузнецов Н.А. 30  
**Кузнецова А.А. 30**  
 Кулакова О.Г. 100  
 Кулаковский И.В. 27  
 Кульбакин Д.Е. 101  
 Курбацкая И.Н. 99  
**Кутихин А.Г. 102**  
 Лаврик О.И. 98  
 Ларионова И.А. 43  
 Ларионова И.В. 106  
 Лашинский Н.Н. 49  
 Лисина Т.О. 62  
 Литвяков Н.В. 112  
**Ломакин Я.А. 103**  
 Лузина О.А. 98  
 Лукьянов Д.А. 57  
 Лукьянова А.В. 48  
 Макаренко М.С. 20  
 Макеева О.А. 93  
 Малахова А.А. 98  
 Малышев Б.С. 68  
 Мамедов А.Э. 99  
 Мамедов И.З. 99  
 Марусин А.В. 93  
 Маслов А.А. 68  
**Матвеева А.М. 31**  
 Матвеева В.Г. 102  
 Медведев С.П. 98  
 Мельникова Н.В. 19, 21  
**Меняйло М.Е. 104**  
 Миннихметов И.Р. 91  
**Минчева Е.В. 67**  
 Мирзоева Н.З. 56  
**Миронова Т.Е. 54**  
 Мирошников К.А. 48  
 Мокрушина Ю.А. 47, 56  
 Молодцова А.С. 82  
 Молякко А.А. 41  
 Моргун А.В. 43  
 Морозов И.В. 29  
**Мошкин А.Д. 68**  
 Мунтян В.С. 52  
 Нагимов Р.Д. 27  
**Наумова Н.Б. 69, 70, 71**  
 Нерсисян С.А. 99  
 Несмелов А.А. 85  
 Никифорова Л.А. 28  
 Никулин Н.А. 55  
 Новаковский Р.О. 19  
 Овчинникова Л.А. 103  
 Окорокова Л.С. 98  
 Олькин С.Е. 71  
**Осадчук А.В. 105**  
 Осадчук Л.В. 105  
 Осаковский В.Л. 108  
 Осинцева М.А. 74  
 Остерман И.А. 57  
 Охлопкова О.В. 68  
 Охотина М.М. 108  
 Панкова О.В. 111  
 Панова Т.В. 57  
 Патрушев М.В. 76  
**Патышева М.Р. 106**  
**Пенин А.А. 20**  
 Переверзев И.М. 45  
 Перельмутер В.М. 104,  
 111  
 Пилигримова Э.Г. 55  
**Пипия С.О. 56**  
**Писарева Е.О. 72**  
 Плехова Н.Г. 96

Поверенная Е.В. 90  
**Повхова Л.В. 21**  
 Подлесная Г.В. 61  
**Поленогова О.В. 73, 77**  
 Полякова М.С. 67  
**Помазной М.Ю. 42, 92**  
 Попова А.В. 48  
 Потапов С.А. 61  
 Прокопов Д.Ю. 87, 88  
 Прокушкин А.С. 63  
 Проскурякова А.А. 87  
 Прудникова С.В. 49  
 Пудова Е.А. 107  
 Пушкова Е.Н. 19  
 Ренвик Н. 108  
 Родин В.А. 57  
 Родионов Е.О. 111  
 Рожмина Т.А. 19, 21  
**Романенко С.А. 87**  
 Роцкая У.Н. 75  
 Рубцов А.А. 64  
 Румянцева М.Л. 52  
 Саввичев А.С. 60  
 Савельева О.Е. 104  
**Савкова А.В. 107**  
**Садовский М.Г. 41, 43**  
 Салахутдинов Н.Ф. 98  
 Сафатов А.С. 68, 71  
 Сваровская М.Г. 110  
 Семенов Д.В. 31  
**Серазетдинова Ю.Р. 74**  
 Сергеева М.В. 95  
 Сивцева Т.М. 108  
 Сигова Е.А. 19  
 Скорынина А.В. 55  
 Смагин Д.А. 84  
 Смирнов А.В. 38  
 Смирнов И.В. 47, 56  
 Сорокин И.И. 27  
 Спиридонова В.А. 28  
 Старчевская М.А. 42  
**Старчевская М.Е. 66, 75**  
 Стахеева М.Н. 106

Степанов В.А. 93, 110  
 Степанов Г.А. 31, 95  
**Стефанова Н.А. 109**  
 Субботина К.В. 40  
 Суслова М.Ю. 61  
 Суханова Е.В. 61  
 Тарабановская Н.А. 106  
 Тарасенко Е.Ф. 42  
 Тархов А.В. 40  
 Таширева Л.А. 104  
 Терехов С.С. 47, 56  
 Терещенко Д.С. 53  
 Терновой В.А. 68  
 Тетерлева А.А. 43  
 Тимошенко В.В. 32  
 Тихонова И.В. 61  
**Тишаква К.В. 88**  
 Токмакова А.Д. 48  
 Тоневицкий А.Г. 99  
**Тошаква С.В. 76**  
 Трегубчак Т.В. 68, 75  
 Трифонова В.А. 82, 87, 88  
**Трифопова Е.А. 110**  
 Тупикин А.Е. 30, 67, 69,  
 70, 71, 98, 102, 103  
 Фаворова О.О. 100  
 Федорова И.К. 101  
 Филипенко М.Л. 40, 96  
 Фотина Н.В. 74  
 Фофанов М.В. 87  
 Фофанов А.В. 71  
 Фрыкин Р.И. 21  
**Хозяинова А.А. 111, 112**  
**Хренова М.Г. 28, 57**  
 Хусаинова Р.И. 91, 97  
 Царовцева И.М. 60  
**Цыганов М.М. 112**  
 Чердынцова Н.В. 104, 106  
 Черткова Е.А. 77  
 Чойнзонов Е.Л. 101  
 Шагимарданова Е.И. 85  
**Шадрин А.М. 50, 55**  
 Шаймуратова Д.Н. 82

Шаповал А.И. 29  
 Шарова Е.И. 86  
 Шаскольский Б.Л. 51  
 Шатунов А.Ю. 108  
**Шатунова Е.А. 32**  
 Шацкая Н.В. 23, 58  
 Швалов А.Н. 68  
**Шишкина О.Д. 58**  
**Шлихт А.Г. 44**  
 Шнейдер М.М. 48  
 Штокало Д.Н. 42, 92  
 Щеголева А.А. 101, 111  
 Щербаква Д.Н. 29  
 Щербаква Д.Ю. 67  
 Юльметова Л.Н. 94  
 Юнусова А.М. 38  
**Яковлева К.И. 45**  
 Ямщиков П.С. 106  
**Ярославцева О.Н. 73, 77**  
**Afonnikov D.A. 22**  
 Aiden E. 46  
 Aksenova E.I. 79  
 Amelina E.L. 79  
 Amstislavskaya T.G. 89  
 Babaylova E.S. 34, 36  
 Baginskaya N.V. 78  
 Bashirzade A.A. 89  
 Baturina O.A. 113  
 Baulina N.B. 113  
 Beklemisheva V.R. 46  
 Belichenko V.M. 89  
**Bondar E.I. 24**  
 Chumakova O.S. 113  
 Davletshina G.I. 46  
 Dontsova O.A. 35  
 Favorova O.O. 113  
 Feranchuk S.I. 24  
**Fofanov M.V. 46**  
 Gavrilenko T.A. 22  
 Genaev M.A. 22  
 Gintsburg A.L. 79  
 Goranenko A.V. 33, 34,  
 36, 37

Graphodatsky A.S. 46  
 Hardy G. 25  
 Ibragimova S.M. 22  
 Kabilov M.R. 33, 34, 35,  
 36, 37, 113  
 Karetnikov D.I. 22  
 Karpova G.G. 33, 34, 36, 37  
 Khan R. 46  
**Kiselev I.S. 113**  
 Kliver S.F. 46  
 Kochetov A.V. 22  
**Kolobova A.V. 33, 34**  
 Komarova E.S. 35  
 Komissarov A.B. 59  
 Kozin M.S. 113  
 Krutovsky K.V. 24  
 Kunda M.S. 79  
 Kuzmin D.A. 24  
 Lemskaya N.A. 46  
 Lishai E.A. 78  
**Logacheva M.D. 25**

Makarenko M.S. 25  
**Malygin A.A. 33, 34, 36,**  
 37  
 Mansour O. 59  
 Miroshnikova K.A. 24  
 Mordvinov V.A. 78  
 Nesterov M.A. 22  
 Oreshkova N.V. 24  
 Osterman I.A. 35  
**Pakharukova M.Y. 78**  
 Patrushev M.V. 22  
 Pavlova J.A. 35  
 Penin A.A. 25  
 Perelman P.L. 46  
 Pisklova M.V. 113  
 Potekhin A.A. 59  
 Prokopov D.Yu. 46  
 Proskuryakova A.A. 46  
 Pyshnyi D.V. 35  
 Ryzhova N.N. 79  
 Salina E.A. 22

Schelkunov M.I. 25  
**Sergiev P.V. 35**  
 Sharov V.V. 24  
 Shmakov N.A. 22  
 Shtratnikova V. Yu. 25  
 Tenditnik M.V. 89  
**Tian Y. 34, 36**  
**Tikhonova M.A. 89**  
 Toschakov S.V. 22  
 Trifonov V.A. 46  
 Tupikin A.E. 33, 34, 35, 36,  
 37  
 Vasiliev G.V. 22  
 Volynkina I.A. 35  
**Voronina O.L. 79**  
 Zaparina O. 78  
 Zateyshchikov D.A. 113  
**Zolotenkova E.A. 37**  
 Zotov A.S. 113  
 Zotova P.A. 35



ООО «Компания Хеликон» с 1997 года один из ведущих российских поставщиков оборудования, реактивы и расходных материалов для клеточной и молекулярной биологии.

## ЛУЧШИЕ РЕШЕНИЯ ДЛЯ ЛАБОРАТОРИИ



ПОМОЩЬ  
В ВЫБОРЕ



ДОСТАВКА



ОБУЧЕНИЕ



СЕРВИСНОЕ  
ОБСЛУЖИВАНИЕ



МЕТОДИЧЕСКАЯ  
ПОДДЕРЖКА

121374, г. Москва,  
Кутузовский пр., д. 88  
Тел.: +7 (499) 705-50-50  
mail@helicon.ru



8 800 770 71 21  
helicon.ru

### ФИЛИАЛЫ:

#### ПРЕДСТАВИТЕЛЬСТВО В СИБИРСКОМ РЕГИОНЕ:

630090 г. Новосибирск,  
ул. Инженерная, д. 28  
Тел.: +7 (383) 207-84-85  
novosibirsk@helicon.ru

#### ПРЕДСТАВИТЕЛЬСТВО В СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ РЕГИОНЕ:

194356 г. Санкт-Петербург,  
ул. Асафьева, д.3, корп.1, литер А, пом.15-Н  
Тел.: +7 (812) 244-85-52  
spb@helicon.ru

#### ПРЕДСТАВИТЕЛЬСТВО В ПРИВОЛЖСКОМ РЕГИОНЕ:

420021 г. Казань,  
ул. Татарстан, д. 14/59, оф. 201  
Тел.: +7 (843) 202-33-37  
volga@helicon.ru

#### ПРЕДСТАВИТЕЛЬСТВО В ЮЖНОМ РЕГИОНЕ:

344116 г. Ростов-на-Дону,  
ул. 2-ая Володарская, д. 76/23а  
Тел.: +7 (863) 209-88-89  
rostov@helicon.ru

#### ПРЕДСТАВИТЕЛЬСТВО НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ:

690021, г. Владивосток,  
ул. Запорожская, д. 77, 3 этаж, офис 341  
Тел.: +7 (914) 720-55-63  
vladivostok@helicon.ru





# BD Rhapsody

## Анализ транскриптома единичных клеток

- Полнотранскриптомный анализ (WTA)
- Таргетные панели для анализа экспрессии до 500 генов
- Антитела AbSeq с олигонуклеотидными метками для одновременного фенотипирования
- Исследование транскриптома антиген-специфичных Т- и В-клеток
- Анализ V(D)J-рекомбинации для Т- и В-клеточных рецепторов



реклама



Картриджи и реагенты для подготовки библиотек



Станция загрузки клеток и сканер для контроля состояния клеток



Программное обеспечение для обработки данных scRNA-seq

Официальный дистрибьютор Becton Dickinson /США/ в России – компания «БиоЛайн»



группа компаний

ООО «БиоЛайн», Россия,  
197022, Санкт-Петербург,  
ул. Профессора Попова, д. 23, лит. Е  
тел.: +7 (812) 320 49 49  
факс: +7 (812) 320 49 40  
e-mail: main@bioline.ru  
www.bioline.ru

Москва, тел.: +7 (800) 555 49 40  
Новосибирск, тел.: +7 (383) 227 09 63  
Екатеринбург, тел.: +7 (343) 287 32 49  
Н. Новгород, тел.: +7 (831) 278 61 47  
Ростов-на-Дону, тел.: +7 (863) 268 99 32  
Казань, тел.: +7 (843) 570 66 88  
Хабаровск, тел.: +7 (4212) 474 767  
Уфа, тел.: +7 (3472) 86 21 09

www.algimed.com



Альгимед

## Комплексное оснащение лабораторий



Мультибрендовый ассортимент оборудования, реагентов, химических реактивов и расходных материалов.



Профессиональное обслуживание и рекомендации в подборе продукции.



Индивидуальный подход к клиентам.



+ 7 499 682 61 09



cellbio@algimed.ru

# SE ANA

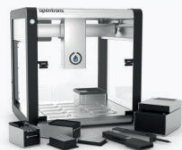
Лидер в области генетических исследований

Мы предлагаем для вас комплексные решения в области молекулярно-биологических исследований

## Обучение и услуги

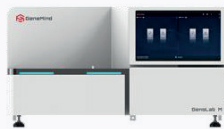
- Секвенирование по Сэнгеру
- Фрагментный анализ
- Высокопроизводительное секвенирование
- Анализ данных
- Разработка тест-систем
- Консультирование и выполнение проектов

## Оборудование



### OPENTRONS

Робот для выделения нуклеиновых кислот и подготовки NGS библиотек



### GENOLAB M

Высокопроизводительная система для секвенирования нуклеиновых кислот



### OPTOLANE

Анализатор [LOAA] (On-Point)  
Новое решение для цифровой ПЦР

И многое другое оборудование

## Реактивы



### RAISSOL

Наборы для выделения ДНК и её количественного определения.



### TECAN

Наборы для подготовки NGS-библиотек

Научное издание

**III ВСЕРОССИЙСКАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ  
«ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЕ СЕКВЕНИРОВАНИЕ  
В ГЕНОМИКЕ».**

**Тезисы**

---

Подписано к печати 14.06.2022 г. Формат 100x70<sup>1/16</sup>  
Бумага офсетн. Гарнитура Таймс. Печать цифровая.

Тираж 167 экз.

Заказ № 223

ООО «Академиздат»

630090, Новосибирск, пр-т ак. Лаврентьева, 6/1

Тел. (383) 380-65-20

[www.academizdat.com](http://www.academizdat.com)