

**Конференция ВОГИС «Проблемы генетики и селекции»**

**Курсы повышения квалификации  
научно-педагогических кадров по генетике с основами  
селекции, медицинской генетики и эволюции**

**НАУЧНАЯ ПРОГРАММА**

**И**

**ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ**

**1-7 июля 2013 г., НОВОСИБИРСК**

## **ОРГАНИЗАТОРЫ**

**Институт цитологии и генетики СО РАН  
Сибирское отделение Российской академии наук  
Вавиловское общество генетиков и селекционеров  
Новосибирский государственный университет  
ООО "Научный сервис"**

### **При участии:**

Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН  
Санкт-Петербургского филиала Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН  
Министерства образования, науки и инновационной политики Новосибирской области  
IT-биофармацевтического кластера Новосибирской области  
Кафедры цитологии и генетики факультета естественных наук НГУ  
Кафедры генетики биологического факультета МГУ  
Кафедры генетики и селекции биолого-почвенного факультета СПбГУ  
Кафедры молекулярной биологии факультета естественных наук НГУ  
Кафедры физиологии факультета естественных наук НГУ  
Кафедры информационной биологии факультета естественных наук НГУ  
Кафедры генетики и фундаментальной медицины биологического факультета БашГУ  
Факультета информационных технологий НГУ

## **ПРОГРАММНЫЙ КОМИТЕТ**

Академик РАН В.К. Шумный, ИЦиГ СО РАН, НГУ (председатель конференции)  
Академик РАН С.Г. Инге-Вечтомов, СПбГУ  
Академик РАН Н.А. Колчанов, ИЦиГ СО РАН, НГУ  
Академик РАН С.В. Шестаков, МГУ, ИОГен РАН  
Член-корр. РАН М.И. Воевода, ИЦиГ СО РАН  
Профессор П.М. Бородин, ИЦиГ СО РАН, НГУ  
Профессор В.В. Зинченко, МГУ  
Профессор Н.Б. Рубцов, ИЦиГ СО РАН  
Профессор О.Л. Серов, ИЦиГ СО РАН  
Профессор Э.К. Хуснутдинова, БашГУ  
д.б.н. Е.К. Хлесткина, ИЦиГ СО РАН

## **ОРГАНИЗАЦИОННЫЙ КОМИТЕТ**

*(Институт цитологии и генетики СО РАН)*  
Хлесткина Е.К. (председатель оргкомитета)  
Морозова Е.В. (секретарь оргкомитета)  
Зубова С.В., Лаврюшев С.В.,  
Киселева Г.Н., Ончукова А.А., Токпанов Е.А.,  
Харкевич А.В., Глебова Н.П., Знак О.В.

## **Спонсоры**

РФФИ, ООО «Агентство Химэксперт», ООО «Рош Диагностика Рус»  
ООО "Спектроника", ООО «Био-Рад Лаборатории»

## **Контакты**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики  
Сибирского отделения Российской академии наук (ИЦиГ СО РАН)  
630090, Новосибирск, Россия, пр.ак.Лаврентьева,10  
**Телефон:** +7 (383) 363-49-52\*3309  
**Факс:** +7 (383) 333-12-78  
**E-mail:** info-vogis@bionet.nsc.ru

## **1 ИЮЛЯ, ПОНЕДЕЛЬНИК**

**8.30-9.30 – регистрация участников в холле  
Малого зала Дома Ученых СО РАН**

**9.30-9.45 – открытие Конференции в Малом зале Дома Ученых СО РАН**

- ПРЕЗИДЕНТ ВАВИЛОВСКОГО ОБЩЕСТВА ГЕНЕТИКОВ И СЕЛЕКЦИОНЕРОВ – *академик РАН В.К. Шумный*
- ПРЕДСЕДАТЕЛЬ НАУЧНОГО СОВЕТА ПО ГЕНЕТИКЕ И СЕЛЕКЦИИ РАН – *академик РАН С.Г. Инге-Вечтомов*
- ДИРЕКТОР ИНСТИТУТА ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ СО РАН – *академик РАН Н.А. Колчанов*

**9.45-13.00 – лекции<sup>1</sup> в Малом зале Дома Ученых СО РАН**

*председатели: академик РАН В.К. Шумный и академик РАН С.Г. Инге-Вечтомов*

**9.45-10.45 ИСТОРИЯ ГЕНЕТИКИ** – *академик РАН В.К. Шумный,  
г. Новосибирск*

**10.45-11.45 ПРОБЛЕМА ИЗМЕНЧИВОСТИ.  
ФЕНОМЕНОЛОГИЯ И МЕХАНИЗМЫ** –  
*академик РАН С.Г. Инге-Вечтомов, г. Санкт-Петербург*

**11.45-12.00 Перерыв на кофе**

**12.00-13.00 ЭВОЛЮЦИЯ** – *профессор П.М. Бородин,  
г. Новосибирск*

**13.00-14.00 – перерыв на обед**

**14.00-15.00 – торжественное мероприятие (возле ИЦиГ СО РАН)**

**15.00-19.15 – лекции в конференц-зале ИЦиГ СО РАН**

*председатели: академик РАН Н.А. Колчанов и профессор П.М. Бородин*

**15.00-16.00 ГЕННЫЕ СЕТИ** – *академик РАН Н.А. Колчанов,  
г. Новосибирск*

**16.00-17.00 "РАЗОРВАННЫЕ" ГЕНЫ И СПЛАЙСИНГ** –  
*профессор Г.М. Дымишиц, г. Новосибирск*

**17.00-17.15 Перерыв на кофе**

**17.15-18.15 МИТОТИЧЕСКИЙ ЦИКЛ И ЕГО РЕГУЛЯЦИЯ** –  
*профессор Л.В. Высоцкая, г. Новосибирск*

**18.15-19.15 МЕЙОЗ И РЕКОМБИНАЦИЯ** – *к.б.н. А.А. Торгашева,  
г. Новосибирск*

**20.00 – фуршет**

---

<sup>1</sup> Все лекции читаются приглашенными докладчиками

## **2 ИЮЛЯ, ВТОРНИК**

**8.30-13.00 – лекции в конференц-зале ИЦиГ СО РАН**

*председатели: профессор Н.Б. Рубцов и чл.-корр. РАН Б.Ф. Ванюшин*

**8.30-9.30 ВВЕДЕНИЕ В МОЛЕКУЛЯРНУЮ ВИРУСОЛОГИЮ –**

*чл.-корр. РАН С.В. Нетёсов, г. Новосибирск*

**9.30-10.30 ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОМА**

*МЛЕКОПИТАЮЩИХ – профессор Н.Б. Рубцов, г. Новосибирск*

**10.30-10.45 МЕТОДЫ NGS В ГЕНОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ –**

*И.А. Волков, ООО «Агентство Химэксперт», г. Новосибирск*

**10.45-11.00 Перерыв на кофе**

**11.00-12.00 ГЕНОМ ЖИВОТНЫХ – к.б.н. Д.М. Ларкин,**

*г. Аберистуит*

**12.00-13.00 ГЕНОМ РАСТЕНИЙ – профессор Е.А. Салина,**

*г. Новосибирск*

**13.00-14.00 – перерыв на обед**

**14.00-17.30 – лекции в конференц-зале ИЦиГ СО РАН**

*председатели: профессор С.Л. Киселев и профессор Л.А. Лутова*

**14.00-15.00 СТЕЛОВЫЕ КЛЕТКИ И ГЕНЕТИЧЕСКОЕ**

**РЕПРОГРАММИРОВАНИЕ – профессор С.Л. Киселев,**

*г. Москва*

**15.00-16.00 ГЕНЕТИКА РАЗВИТИЯ – к.б.н. Н.Р. Баттулин,**

*г. Новосибирск*

**16.00-17.00 СОВРЕМЕННЫЕ АСПЕКТЫ ГЕНЕТИКИ РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ**

*– профессор Л.А. Лутова, г. Санкт-Петербург*

**17.00-17.15 Перерыв на кофе**

**17.15-18.15 ЭПИГЕНЕТИКА: НАСТОЯЩЕЕ И БУДУЩЕЕ –**

*чл.-корр. РАН Б.Ф. Ванюшин, г. Москва*

*г. Новосибирск*

**18.15-19.45 Круглый стол в конференц-зале ИЦиГ СО РАН  
«ТЕНДЕНЦИИ ПРЕПОДАВАНИЯ ГЕНЕТИКИ В ВЫСШЕЙ ШКОЛЕ»**

### **3 ИЮЛЯ, СРЕДА**

**8.30-12.00** – лекции в конференц-зале ИЦиГ СО РАН

*председатели: академик РАСХН И.А. Тихонович и  
чл.-корр. РАН И.А. Захаров-Гезехус*

**8.30-9.30** ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ НАСЛЕДСТВЕННОСТЬ –  
*чл.-корр. РАН И.А. Захаров-Гезехус, г. Москва*

**9.30-10.30** ГЕНЕТИКА СИСТЕМНОГО КОНТРОЛЯ МИКРОБНО-  
РАСТИТЕЛЬНОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ – *академик РАСХН И.А.  
Тихонович, г. Санкт-Петербург*

**10.30-10.45** ПРЕДПОСЫЛКИ, НЕОБХОДИМОСТЬ И СПОСОБЫ  
АВТОМАТИЗАЦИИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ  
ИССЛЕДОВАНИЙ И ХРАНЕНИИ БИОЛОГИЧЕСКОГО  
МАТЕРИАЛА В СОВРЕМЕННОЙ ЛАБОРАТОРИИ –  
*А.И. Макаров, ООО «Спектроника», г. Москва*

**10.45-11.00** *Перерыв на кофе*

**11.00-12.00** ДОМСТИКАЦИЯ, КАК САМОЕ РАННЕЕ  
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЕ ДОСТИЖЕНИЕ ЧЕЛОВЕЧЕСТВА – *д.б.н.  
О.В. Трапезов, г. Новосибирск*

**12.00-14.00 (I)** – экскурсия в геологический музей/ перерыв на обед

**12.00-14.00 (II)** – перерыв на обед/ экскурсия в геологический музей

**14.00-17.45** – лекции в конференц-зале ИЦиГ СО РАН

*председатели: профессор А.В. Родионов и чл.-корр. РАСХН Н.П. Гончаров*

**14.00-15.00** МЕЖВИДОВАЯ ГИБРИДИЗАЦИЯ И ПОЛИПЛОИДИЯ В  
ЭВОЛЮЦИИ РАСТЕНИЙ – *профессор А.В. Родионов,  
г. Санкт-Петербург*

**15.00-16.00** ДОМСТИКАЦИЯ РАСТЕНИЙ –  
*чл.-корр. РАСХН Н.П. Гончаров, г. Новосибирск*

**16.00-16.30** *Перерыв на кофе*

**16.30-17.30** ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СОХРАНЕНИЯ  
ГЕНОФОНДОВ ДОМСТИЦИРОВАННЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ –  
*д.б.н. Ю.А. Столповский, г. Москва*

**17.30-17.45** МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ И ОЦЕНКА  
СОСТОЯНИЯ ГЕНОФОНДОВ ПОПУЛЯЦИЙ РЕДКИХ И  
РЕСУРСНЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ – *д.б.н. С.В. Боронникова,  
г. Пермь*

**17.45-19.00** Стендовая сессия

**20.00-23.00** – автобусная экскурсия «Вечерний Новосибирск»

## 4 ИЮЛЯ, ЧЕТВЕРГ

**8.30-13.00 – лекции в конференц-зале ИЦиГ СО РАН**

*председатели: академик РАН В.П. Пузырёв и чл.-корр. РАН Н.К. Янковский*

**8.30-9.30** ГЕНЕТИКА И ГЕНОМИКА ЧЕЛОВЕКА –

*чл.-корр. РАН Н.К. Янковский, г. Москва*

**9.30-10.30** ОСНОВЫ МЕДИЦИНСКОЙ ГЕНЕТИКИ –

*чл.-корр. РАН М.И. Воевода, г. Новосибирск*

**10.30-10.45** ПЦР В РЕАЛЬНОМ ВРЕМЕНИ И ЦИФРОВАЯ ПЦР: СРАВНЕНИЕ

*– к.б.н. В.В. Базалук, ООО «Био-Рад Лаборатории», г. Новосибирск*

**10.45-11.00** *Перерыв на кофе*

**11.00-12.00** МЕДИЦИНСКАЯ ПАТОГЕНЕТИКА –

*академик РАН В.П. Пузырёв, г. Томск*

**12.00-13.00** ГЕНОТИПЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ ДЛЯ БИОМЕДИЦИНСКИХ

*ИССЛЕДОВАНИЙ – профессор М.П. Мошкин, г. Новосибирск*

**13.00-14.00 – перерыв на обед**

**14.00-19.00 – лекции и доклады в конференц-зале ИЦиГ СО РАН**

*председатели: профессор Э.К. Хуснутдинова и чл.-корр. РАН М.И. Воевода*

**14.00-15.00** ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ГЕНЕТИКА – профессор А.Л. Маркель,

*г. Новосибирск*

**15.00-16.00** ЭТНОГЕНОМИКА – профессор Э.К. Хуснутдинова, г. Уфа

**16.00-17.00** ПАЛЕОГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА –

*к.б.н. А.С. Пилипенко, г. Новосибирск*

**17.00-17.20** *Перерыв на кофе*

**17.20-17.40** ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ  
ИЗУЧЕНИЕ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА В РЕСПУБЛИКЕ

*БАШКОРТОСТАН – профессор И.М. Хидиятова, г. Уфа*

**17.40-17.55** АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА МУЦИНА  
19 С РАЗВИТИЕМ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У РУССКИХ ПО  
РЕЗУЛЬТАТАМ ПОЛНОГЕНОМНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ – д.б.н.

*А.С. Карунас, г. Уфа*

**17.55-18.10** МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНОВ

*ЦИТОКИНОВ ПРИ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ –*

*к.б.н., Е.В.Машкина, г. Ростов-на-Дону*

**18.10-18.25** АБЕРРАНТНАЯ ЭКСПРЕССИЯ микроРНК ПРИ ИНДУКЦИИ ДВУНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ И ПОПЕРЕЧНЫХ СШИВОК ДНК В КЛЕТКАХ HeLa – *к.м.н., Е.Ф.Шин, г. Ростов-на-Дону*

**18.25-18.40** ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ – *В.В. Эрдман, г. Уфа*

**18.40-18.50** АНАЛИЗ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ BRCA1, BRCA2, CHEK2 И PALB2 ПРИ РАЗВИТИИ РАКА ЯИЧНИКОВ У ЖЕНЩИН ИЗ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН – *Д.С. Прокофьева, г. Уфа*

**18.50-19.00** ЦЕЛОСТНОСТЬ ГЕНОМА КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА МЫШЕЙ ЛИНИИ SWA И ЗООСОЦИАЛЬНЫЕ СТИМУЛЫ – *Т.С. Глинин, г. Санкт-Петербург*

**20.00 – банкет**

## **5 ИЮЛЯ, ПЯТНИЦА**

**8.30-10.00 – доклады в конференц-зале ИЦиГ СО РАН**

*председатели: к.б.н. Ю.Л. Орлов и к.б.н. Ю.М. Никоноров*

**8.30-8.55** ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ В ОБУЧЕНИИ  
БИОЛОГИЧЕСКИМ ДИСЦИПЛИНАМ – *к.б.н. Т.Ю. Баймак,  
г. Новосибирск*

**8.55-9.15** КОМПЬЮТЕРНЫЙ АНАЛИЗ ДАННЫХ СЕКВЕНИРОВАНИЯ И  
ХРОМАТИН-ИММУНОПРЕЦИПИТАЦИИ ChIP-seq –  
*к.б.н. Ю.Л. Орлов, г. Новосибирск*

**9.15-9.30** АРОМОРФОЗЫ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ: ПОЛНОГЕНОМНЫЙ  
АНАЛИЗ НА ПРИМЕРЕ МНОГОКЛЕТОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ – *к.б.н.  
К.В. Гунбин, г. Новосибирск*

**9.30-9.45** ТРАНСПОЗОН Hermes В ГЕНОМЕ ЛАБОРАТОРНЫХ ЛИНИЙ  
КОМНАТНОЙ МУХИ – *к.б.н. Ю.М. Никоноров, г. Уфа*

**9.45-10.00** ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ СИСТЕМ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ  
ДИНАМИКУ И РЕОРГАНИЗАЦИЮ АКТИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА В  
ХОДЕ ООГЕНЕЗА *Drosophila melanogaster* – *к.б.н. А.А. Огиенко,  
г. Новосибирск*

**10.00-10.15** Перерыв на кофе

**10.15-13.00 – экскурсии в SPF-виварий и ЦКП «Генофонды пушных и  
сельскохозяйственных животных»**

**13.00-14.00 – перерыв на обед**

**14.00-19.00 – лекции и доклады в конференц-зале ИЦиГ СО РАН**

*председатели: профессор Е.А. Салина и д.б.н. Е.Д. Бадаева*

**14.00-15.00** ХРОМОСОМНАЯ ИНЖЕНЕРИЯ – НАПРАВЛЕНИЕ  
БИОТЕХНОЛОГИИ РАСТЕНИЙ  
– *профессор Л.А. Першина, г. Новосибирск*

**15.00-16.00** ХРОМОСОМНЫЙ АНАЛИЗ РАСТЕНИЙ  
– *д.б.н. Е.Д. Бадаева, г. Москва*

**16.00-17.00** МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ В ГЕНЕТИЧЕСКИХ  
ИССЛЕДОВАНИЯХ И В СЕЛЕКЦИИ  
– *д.б.н. Е.К. Хлесткина, г. Новосибирск*

**17.00-17.30** Перерыв на кофе



*председатели: профессор Т.А. Стрельцова и д.б.н. С.В. Чеботарь*

- 17.30-17.45** ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ ИСПЫТАНИЕ СОРТОВ СОБСТВЕННОЙ СЕЛЕКЦИИ В УСЛОВИЯХ РАЗЛИЧНОЙ ВЫСОТНОЙ ПОЯСНОСТИ ГОРНОГО АЛТАЯ – профессор Т.А. Стрельцова, г. Горно-Алтайск
- 17.45-18.00** СКРИНИНГ СОСТОЯНИЯ ГОМЕОСТАЗА В УСЛОВИЯХ НАПРЯЖЕНИЯ ПРИ ИНТЕНСИФИКАЦИИ ЖИВОТНОВОДСТВА – к.б.н. И.Ю.Еремина, г. Красноярск
- 18.00-18.15** ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ АРОМАТИЧЕСКИХ ДЕГИДРОГЕНАЗ У РЖИ И ПШЕНИЦЫ И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ПРИЗНАКИ РАСТЕНИЙ – д.б.н. А.А.Коновалов, г. Новосибирск
- 18.15-18.30** ДОЛГАЯ ДОРОГА ОТ ПРИЗНАКА К ГЕНУ: ЛОКУС *Grc-V1* СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКА В ЗЕРНЕ ПШЕНИЦЫ – к.б.н. Т.А. Пшеничникова, г. Новосибирск
- 18.30-18.45** МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ РОСТ, РАЗВИТИЕ И РЕАКЦИЮ НА ФОТОПЕРИОД У УКРАИНСКИХ И РОССИЙСКИХ СОРТОВ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ – д.б.н. С.В. Чеботарь, г. Одесса
- 18.45-19.00** ОЦЕНКА ВРЕМЕНИ ДИВЕРГЕНЦИИ И ПОПУЛЯЦИОННОЙ ДИНАМИКИ В РОДЕ *Pisum L.* ПРИ ПОМОЩИ ГЕНОВ ГИСТОНА H1 – к.б.н. О.О. Зайцева, г. Новосибирск

## **6 ИЮЛЯ, СУББОТА**

**8.30-13.00 – лекции в конференц-зале ИЦиГ СО РАН**

*председатели: профессор О.Л. Серов и к.б.н. Г.В. Васильев*

**8.30-9.30** ТРАНСГЕННЫЕ ЖИВОТНЫЕ: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ – профессор О.Л. Серов, г. Новосибирск

**9.30-10.30** ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИНЖЕНЕРИЯ РАСТЕНИЙ – профессор Е.В. Дейнеко, г. Новосибирск

**10.30-11.00** Перерыв на кофе

**11.00-12.00** «ПРЯМАЯ» И «ОБРАТНАЯ» ГЕНЕТИКА. ГЕНЕТИКА КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ – к.б.н. Н.М. Белоногова, г. Новосибирск

**12.00-13.00** ГЕНОМИКА И ТРАНСКРИПТОМИКА – к.б.н. Г.В. Васильев, г. Новосибирск

**13.00-14.00 – перерыв на обед**

**14.00-17.00 – лекции в конференц-зале ИЦиГ СО РАН**

*председатели: к.б.н. Д.А. Афонников и д.б.н. Е.К. Хлесткина*

**14.00-15.00** СИСТЕМНАЯ БИОЛОГИЯ – к.б.н. Д.А. Афонников, г. Новосибирск

**15.00-15.45** СИСТЕМНАЯ БИОЛОГИЯ В ПРИМЕРАХ. ФИТОГОРМОН АУКСИН – к.б.н. В.В. Миронова, г. Новосибирск

**15.45-16.00 – перерыв на кофе**

**16.00-17.00** ПРОТЕОМИКА И МЕТАБОЛОМИКА – к.б.н. С.Е. Пельтек, г. Новосибирск

**17.00-17.30 – заключительное слово**

## **7 ИЮЛЯ, ВОСКРЕСЕНИЕ**

**отъезд участников**

## СТЕНДОВЫЕ СООБЩЕНИЯ

- МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ФЕНИЛКЕТОНУРИИ И ВРОЖДЕННОЙ ДИСФУНКЦИИ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН –  
к.б.н. В.Л. Ахметова, г. Уфа
- ПОЛИМОРФИЗМ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ И СТАРЕНИЕ В  
КАЗАХСТАНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ – к.б.н. Б.О. Бекманов, г. Алматы
- МЕТОД МНОГОМЕРНОЙ ОЦЕНКИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ И  
ПОДРАЗДЕЛЁННОСТИ ПОПУЛЯЦИЙ – д.б.н. Г.В. Беньковская, г. Уфа
- АНАЛИЗ ISBP МАРКЕРОВ ПШЕНИЦЫ, ПОЛУЧЕННЫХ НА ОСНОВЕ  
ПИРОСЕКВЕНИРОВАНИЯ КОРОТКОГО ПЛЕЧА 5В ХРОМОСОМЫ *Triticum  
aestivum* L.– к.б.н. Л.Л. Бильданова, г. Новосибирск
- ПОИСК КАНДИДАТОВ НА РОЛЬ ГЕНА ЯДЕРНО-ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ  
НЕСОВМЕСТИМОСТИ У ГОРОХА – к.б.н. В.С. Богданова, г. Новосибирск
- СОЗДАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ МАРКИРОВАННЫХ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С  
РАЗЛИЧНЫМИ КОМБИНАЦИЯМИ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОВ *Pp* (*purple pericarp*)  
– Е.И. Гордеева, г. Новосибирск
- ПРОИСХОЖДЕНИЕ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА И ЭВОЛЮЦИЯ ТАТА-БОКСОВ БЕЛОК-  
КОДИРУЮЩИХ ГЕНОВ – к.б.н. К.В. Гунбин, г. Новосибирск
- ИЗУЧЕНИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ СОВМЕСТИМОСТИ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА  
ГОРОХ (*Pisum* L.) В РЕЦИПРОКНЫХ СКРЕЩИВАНИЯХ ПО ДИАЛЛЕЛЬНОЙ  
СХЕМЕ – к.б.н. О.Э. Костерин, г. Новосибирск
- АНАЛИЗ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *il-4* (C590T) С ВОЗНИКНОВЕНИЕМ  
БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ В РЕСПУБЛИКЕ  
БЕЛАРУСЬ – к.б.н. Э.В. Крупнова, г. Минск
- АССОЦИАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА ФЕРМЕНТОВ I И II ФАЗЫ  
БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ С РИСКОМ ВОЗНИКНОВЕНИЯ  
РАКА ЯИЧНИКОВ – к.б.н. Е.П. Михаленко, г. Минск
- СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ПО СОДЕРЖАНИЮ  
КЛЕЙКОВИНЫ СРЕДИ СОРТОВ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ,  
ВОЗДЕЛЫВАВШИХСЯ В СИБИРИ В XX ВЕКЕ –  
Е.В. Морозова, г. Новосибирск
- ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСНОВ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ  
ЖИЗНИ НА МОДЕЛЬНОМ ОБЪЕКТЕ  
*Musca domestica* L. – Р.Ш. Мустафина, г. Уфа
- МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕСОВЕРШЕННОГО  
ОСТЕОГЕНЕЗА – к.б.н. Д.Д. Надьришина, г. Уфа
- ИССЛЕДОВАНИЕ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ *MUN7*, *MUVRC* У ПАЦИЕНТОВ С  
ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ И ДИЛАТАЦИОННОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ В  
РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ – С.С. Ниязова, г. Минск
- ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ РЯДА ГЕНОВ  
ЦИТОКИНОВ С ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН –  
к.б.н. А.Х. Нургалеева, г. Уфа
- РОЛЬ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В ИЗМЕНЧИВОСТИ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ  
ПРИЗНАКОВ КАРТОФЕЛЯ В ГОРНОМ АЛТАЕ  
– А.А. Оплеухин, г. Горно-Алтайск

КАК КЛАСТЕРЫ МНОЖЕСТВЕННЫХ NFAT5 САЙТОВ МОГУТ ВЛИЯТЬ НА УРОВЕНЬ NFAT5-ИНДУЦИРУЕМОЙ ЭКСПРЕССИИ NFAT5-ЗАВИСИМЫХ ГЕНОВ: ПРИБЛИЖЕННОЕ РЕШЕНИЕ НЕКОРРЕКТНО ПОСТАВЛЕННОЙ ОБРАТНОЙ ЗАДАЧИ – *П.П. Пономаренко, г. Новосибирск*

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНТРОГРЕССИРОВАННОГО ОТ *Aegilops speltoides* ЛОКУСА *Ha-Sp* ДЛЯ СОЗДАНИЯ СУПЕРМЯГКОЗЁРНОГО ГЕНОТИПА МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ – *к.б.н. А.В. Симонов, г. Новосибирск*

НОВЫЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ ФОРМ РАСТЕНИЙ – *к.б.н. О.Г. Смирнова, г. Новосибирск*

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНФОРМАЦИОННОГО РЕСУРСА TGR ДЛЯ СОЗДАНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ С ЧУВСТВИТЕЛЬНЫМИ К СОЛЕВОМУ СТРЕССУ ПРОМОТОРАМИ – *к.б.н. О.Г. Смирнова, г. Новосибирск*

ПРОТИВОРЕЧИЕ АДАПТАЦИИ И НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ АДАПТИВНОСТЬ – *В.В. Суслов, г. Новосибирск*

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭВОЛЮЦИИ БЕЛКОВ ГЕННОЙ СЕТИ БИОСИНТЕЗА АУКСИНА У РАСТЕНИЙ – *И.И. Турнаев, г. Новосибирск*

ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА ОСТЕОПРОТЕГЕРИНА (OPG) В РАЗВИТИИ ОСТЕОПОРОЗА – *к.б.н. Р.И. Хусаинова, г. Уфа*

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ БЕЛКОВ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ И СИМПАТОАДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМ У БОЛЬНЫХ С ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ – *к.б.н. Н.Н. Чакова, г. Минск*

АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ MMP1 И MMP2 С ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЖЕЛУДКА И ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН – *Э.Х. Шаймарданова, г. Уфа*

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НАРУШЕНИЙ МУЖСКОЙ ФЕРТИЛЬНОСТИ ВСЛЕДСТВИЕ ЯДЕРНО-ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ НЕСОВМЕСТИМОСТИ В ОТДАЛЕННЫХ СКРЕЩИВАНИЯХ ГОРОХА (*Pisum L.*) – *А.К. Ядрихинский, г. Новосибирск*

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ФЕНИЛКЕТОНУРИИ И ВРОЖДЕННОЙ ДИСФУНКЦИИ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

**В.Л. Ахметова\*<sup>1</sup>, А.А. Рахимкулова<sup>1</sup>, Е.А. Пудова<sup>2</sup>, О.А. Малиевский<sup>2</sup>, Э.К. Хуснутдинова<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН (Уфа), Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет (Уфа), Россия

\*e-mail: vita-akh@mail.ru

Фенилкетонурия (ФКУ) и врожденная дисфункция коры надпочечников (ВДКН) – распространенные тяжелые аутосомно-рецессивные заболевания, характеризующиеся клиническим полиморфизмом, генетической гетерогенностью и неоднородным этно-территориальным распространением. Частота ФКУ и классических форм ВДКН существенно варьирует в различных регионах и этнических группах, составляя в среднем 1:10000 и 1:15000 новорожденных, соответственно. По данным неонатального скрининга в Республике Башкортостан (РБ) ФКУ встречается с частотой 1:9585 новорожденных, ВДКН - 1:8974. Различные популяции мира имеют выраженную генетическую гетерогенность по частоте и характеру мутаций в соответствующих генах, что находит отражение в особенностях клинического течения, диагностики и лечения ФКУ и ВДКН. Поэтому для наиболее эффективной организации медико-генетической службы, ранней диагностики и профилактики данных заболеваний необходимо проводить молекулярные исследования генов, ответственных за их развитие, в каждом отдельном регионе. Целью настоящей работы было изучение молекулярно-генетической природы ФКУ и ВДКН в РБ. Классическая форма ФКУ, основными клиническими симптомами которой являются высокая степень слабоумия и тяжелые психические расстройства, обусловлена дефицитом фермента фенилаланингидроксилазы (ФАГ) вследствие мутаций в кодирующем его гене PAH. В результате проведенного анализа гена PAH у 139 больных с ФКУ из РБ выявлено 27 различных мутаций, наиболее распространенной из которых оказалась мутация *p.Arg408Trp* с частотой 52.16%. Второй по частоте определена мутация *p.Arg261Gln* (12.23%), третьей - мутация сплайсинга *c.1315+1G>A* (3.96%). Другие мутации *p.Arg158Gln*, *p.Arg252Trp*, *c.441+5G>T*, *c.663-664delAG*, *p.Leu48Ser*, *p.Pro281Leu*, *c.1066-11G>A*, *p.Ile306Val*, *p.Arg111X*, *c.165delT*, *p.Ser349Pro*, *p.Tyr414Cys*, *c.168+5G>A*, *c.208-210del3*, *c.509+5delG*, *p.Trp187Arg*, *p.Tyr206X*, *p.Glu280Lys*, *p.Ala300Ser*, *p.Glu390Gly* и *p.Ala403Val* гена PAH обнаружены с частотами от 3.23% до 0.36%. Кроме того, идентифицированы 3 новые ранее неописанные мутации гена PAH: *p.Arg252Pro*, *c.1315+del4*, *c.116delT*. Проведенный анализ показал, что 87% изученных ФКУ-семей из РБ оказались полностью информативными для ДНК-диагностики прямым методом, 11% - частично-информативными, а 2% - абсолютно неинформативными. ВДКН вызвана врожденными дефектами ферментов биосинтеза кортикостероидов и в 90-95% случаев обусловлена дефицитом фермента 21-гидроксилазы, возникающим вследствие мутаций в кодирующем ее гене CYP21A2. Данное заболевание разнообразно по клиническим проявлениям и степени тяжести и больных классифицируют по 2 основным формам: «классическая» (сольтеряющая, СТФ, и простая вирильная, ПФ) и «неклассическая» (НФ). Проведенный анализ гена 21-гидроксилазы у 129 больных ВДКН, среди которых 88.4% больных имели классическую форму, 11.6% - НФ, позволил выявить 11 мутаций гена CYP21A2. С наибольшей частотой 27.3% обнаружена делеция/конверсия *delA2orLGC* гена CYP21A2. Мутации *I2splice*, *p.Arg356Trp*, *p.Ile172Asn*, *p.Gln318X*, *p.Val281Leu*, *p.Pro30Leu*, *p.Arg426Cys* и *F307+1nt* гена CYP21A2 идентифицированы с частотами от 13.6% до 0.5%, соответственно. В 9 экзоне идентифицирована новая ранее неописанная делеция *delIle3 84* гена CYP21A2, определенная в компаунд-гетерозиготном состоянии *cdelA2orLGC* у больного с СТФ заболевания. У 8 больных ВДКН обнаружено присутствие двух мутаций на одной хромосоме: *p.Gln318X+p.Arg356Trp* (1.9%), *p.Ile172Asn+p.Gln318X* (0.4%) и *delA2orLGC+p.Val281Leu* (0.4%), *I2splice+p.Pro453Ser* (0.4%), образующих кластер, унаследованный больным либо от матери, либо от отца. Проведенное молекулярно-генетическое исследование показало, что общая информативность изученных ВДКН семей из РБ для прямого метода ДНК-диагностики составила 68.5%. На основе проведенного исследования разработаны алгоритмы молекулярной диагностики ФКУ и ВДКН в РБ. Полученные данные представляют научную и практическую значимость для медико-генетического консультирования с целью повышения эффективности молекулярно-генетической диагностики исследованных моногенных заболеваний в РБ в связи с их высокой распространенностью в данном регионе и профилактики рождения больных детей.

## ПОЛИМОРФИЗМ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ И СТАРЕНИЕ В КАЗАХСТАНСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

Л.Б. Джансугурова, Э.М. Хусаинова, Б.О. Бекманов\*, З.А. Беркимбаев, А.В. Перфильева, К.Б. Джантаева, М.О. Бегманова, А.Т. Маншарипова

Институт общей генетики и цитологии (Алматы), Казахстан

\*e-mail: bobekman@rambler.ru

Процессы старения ассоциированы с изменением статуса окислительного стресса, выражающегося повышением уровня окисленных форм биомолекул в организме. Это приводит к повреждению клеток/тканей, снижению гомеостаза и сопротивляемости организма хроническим заболеваниям. Предполагается, что гены, участвующие в регуляции процессов окислительного стресса, могут играть ключевую роль в развитии возраст-ассоциированных патологий и в формировании предрасположенности к активному долголетию. В настоящее время имеются убедительные данные о важной роли оксида азота в процессах адаптации к окислительному стрессу. В ряде работ *in vitro* продемонстрировано, что NO может фактически замедлять перекисное окисление липидов, проявляя антиоксидантные свойства. Анализ литературных данных показывает, что VNTR-полиморфизм в интроне 4 гена синтазы оксида азота (*eNOS 4b/a* полиморфизм) значительно влияет на концентрацию NO в плазме крови. Для того чтобы оценить значимость VNTR-полиморфизма в интроне 4 гена *eNOS* нами проводилось генотипирование полиморфизма *4b/a* гена эндотелиальной NOS методом ПЦР с использованием специфических праймеров к данному гену. В качестве объектов исследования была выбрана популяция жителей г. Алматы и Алматинской области в возрасте 45 лет и старше. Согласно анкетным данным и данным медицинских обследований из общего объема выборки были сформированы когорты для молекулярно-эпидемиологического исследования методом «случай-контроль»: 232 человека с возраст-зависимыми заболеваниями (сердечно-сосудистые, онкологические, аутоиммунные и нейродегенеративные заболевания) и 142 человека без возраст-зависимых заболеваний. При подборе когорт учитывали соответствие по следующим критериям: национальность, возраст, пол, образ жизни, вредные привычки. Согласно полученным результатам, частота встречаемости аллелей *4a/4b* полиморфизма гена *eNOS* у людей с возраст-ассоциированными заболеваниями и без данных заболеваний не имела достоверной разницы. Частота аллеля *4b* в контрольной группе составила 0.919, *4a* – 0.081; в группе «случай» 0.886 и 0.114 соответственно. Для количественной оценки ассоциации полиморфизма *4a/b* гена *eNOS* с предрасположенностью к развитию возраст-зависимых заболеваний был рассчитан показатель относительного риска. Анализ показал, что с развитием возраст-зависимых заболеваний ассоциируется гетерозиготный генотип *eNOS ab* ( $OR=2,01$ ;  $CI=1,03-3,09$ ;  $\chi^2=4,33$ ;  $p=0,12$ ). Согласно доминантной модели риск ВЗЗ был незначительно повышен для комбинации генотипов *ab+aa* ( $OR=1,70$ ;  $CI=0,94-3,07$ ;  $\chi^2=3,18$ ;  $p=0,07$ ).

## МЕТОД МНОГОМЕРНОЙ ОЦЕНКИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ И ПОДРАЗДЕЛЁННОСТИ ПОПУЛЯЦИЙ.

**К. Китаев, Г.В. Беньковская\***

ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН (Уфа), Россия

\*e-mail: bengal2@yandex.ru

В настоящее время становится все более актуальной проблема статистической обработки массива генетических и популяционных данных. Бурное развитие молекулярной биологии привело к появлению множества методов генетического маркирования, активно внедряются в практику генетического исследования методы секвенирования геномов организмов. Изначально генетический анализ базируется на расчёте частот аллелей гена или вариаций признака. Этот подход можно применять в популяционном анализе, когда в исследуемые группы включают множество организмов, а число изучаемых генов или признаков невелико. Но развитие методики оценки генотипа и фенотипа организмов приводит к появлению массива многомерных данных, которые нужно обрабатывать многомерными методами. Мы предлагаем использовать методы, основанные на матрицах попарных расстояний. Попарные расстояния между особями можно вычислять несколькими способами:

- 1) расстояние Хэмминга для аллелей разных генов и мультиаллельных локусов,
- 2) метрическое расстояние Эвклида для количественных признаков,
- 3) расстояние Махаланобиса для количественных признаков, скоррелированных между собой (векторное расстояние) и
- 4) филогенетические расстояния для последовательностей ДНК и белков.

Полученные матрицы расстояний позволяют решить разные задачи популяционно-генетического анализа. Перед исследователями популяций зачастую стоит 3 задачи:

- 1) оценить генетическое разнообразие популяций;
- 2) оценить подразделённость популяции (выявить наличие внутривидовых группировок);
- 3) оценить действие на генетическую структуру популяций факторов внешней среды.

Задача оценки разнообразия во многих случаях сводится к нахождению дисперсии. Внутривидовое среднее квадратов генетических расстояний между особями является близким к метрической дисперсии, вычисляемой через стандартное отклонение. Структуру популяций можно выявить несколькими способами. При наличии матрицы попарных расстояний можно использовать кластерный анализ и дендрограммы. Для лучшей визуализации можно воспользоваться многомерным шкалированием. В последние годы исследователи активно используют программу Structure, но на наш взгляд её использование на небольших популяциях является некорректным. Для быстрой оценки подразделённости можно использовать расчёт асимметрии распределения попарных генетических расстояний. Чем больше отклонение от нормального распределения (значение асимметрии становится отрицательным), тем больше подразделённость популяции. В экспериментах по исследованию лабораторных линий *Musca domestica* с разной продолжительностью жизни мы получили значения асимметрии (-0,246) - (-0,210) для линий с небольшими (но достоверными отличиями) и (-0,375) для линий с большими различиями. Внутри исследованных групп отличий почти не наблюдается и значение асимметрии близко к 0. Влияние факторов внешней среды на генетическую структуру популяций можно оценить с помощью теста Мантеля. Значения факторов из разных местообитаний можно также перевести в матрицу попарных расстояний, как и генотипы особей, взятых из этих местообитаний. Тест Мантеля можно выполнять как по двум матрицам, так и по множеству (частный тест Мантеля). В качестве дополнительных матриц можно использовать географические расстояния и т. д. Дополнительно можно провести множественную линейную матричную регрессию и получить коэффициенты влияния каждого из факторов внешней среды, а также географической удалённости на генетическую структуру популяции. Все вышеперечисленные методы просты в реализации и интерпретации. Для вычисления расстояний и проведения теста Мантеля создано много программ, например Passage, Multi\_mantel и др. Расчёт расстояний и методы работы с матрицами широко представлены также в статистическом пакете R.

Работа поддержана грантами РФФИ №№12-04-01450-а, 12-04-31106-а\_мол.

## **АНАЛИЗ ISBP-МАРКЕРОВ ПШЕНИЦЫ, ПОЛУЧЕННЫХ НА ОСНОВЕ ПИРОСЕКВЕНИРОВАНИЯ КОРОТКОГО ПЛЕЧА 5В ХРОМОСОМЫ *Triticum aestivum* L.**

**Л.Л. Бильданова\*, М.К. Колтунова, Е.М. Тимонова, Д.А. Афонников, Е.А. Салина**  
ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия

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

Использование молекулярных маркеров позволяет значительно ускорить процесс селекции культурных растений. Наиболее перспективными считаются маркеры с высокой встречаемостью в геноме и пригодные для автоматизированного анализа. К числу таких маркеров относятся ISBP (insertion site based polymorphism) маркеры, представляющие собой последовательности ДНК из уникальных областей генома вблизи инсерций мобильных элементов. Геном мягкой пшеницы *Triticum aestivum* (L.) содержит более 80 % повторяющихся последовательностей различного происхождения и степени повторности, причем значительную часть этих последовательностей составляют мобильные элементы. Литературные данные подтверждают высокую распространенность в геноме злаков ISBP-маркеров, что делает эти маркеры эффективными для насыщения генетической карты мягкой пшеницы и селекции с применением молекулярных маркеров. Применение технологии секвенирования 454 позволило получить 39695 последовательностей ДНК общей длины 16 183 252 пар оснований (5,5 % длины хромосомы 5В), на основе которых при помощи программы поиска маркеров ISBP Finder были получены 1302 пары праймеров для ISBP-маркеров короткого плеча хромосомы 5В мягкой пшеницы. С целью отбора наиболее эффективных маркеров был осуществлен BLAST анализ ампликонов на основе баз данных NCBI. Данный подход позволил убрать из дальнейшего анализа часть маркеров с высоким уровнем гомологии к последовательностям ДНК пшеницы из базы данных, не относящимся к хромосоме 5В. С использованием семи делеционных и двух нулли-тетрасомных линий мягкой пшеницы сорта Chinese Spring (CS) были выделены маркеры, специфичные для 5BS и проведено их делеционное картирование. Показано равномерное распределение ISBP-маркеров по короткому плечу хромосомы 5В. 27 сортов мягкой пшеницы проанализированы с привлечением 21 ISBP-маркера, 76 % маркеров оказались полиморфными. Также ISBP-маркеры выявляют полиморфизм между CS и замещенной линией CS-5В/*dic*, в которой хромосома 5В CS замещена на хромосому 5В *Triticum dicoccoides*, полиморфные маркеры были интегрированы в генетическую карту хромосомы 5В *Triticum aestivum*.



## ПОИСК КАНДИДАТОВ НА РОЛЬ ГЕНА ЯДЕРНО-ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ НЕСОВМЕСТИМОСТИ У ГОРОХА

**В.С. Богданова**

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

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

В настоящее время в селекции растений широко применяется использование диких сородичей культурных растений в качестве доноров хозяйственно-полезных генов, например, устойчивости к биотическим и абиотическим стрессам. Однако межвидовые и даже внутривидовые скрещивания с дикими родственниками часто не приводят к формированию плодovитого потомства вследствие той или иной формы репродуктивной изоляции. Ранее мы описали феномен несовместимости пластидного генома дикого гороха линии ВИР320 (*Pisum sativum* subsp. *elatius*) с ядерным геномом культурного гороха (Богданова, Костерин 2006) и показали, что в данном конфликте участвуют по крайней мере два ядерных гена, *Scs1* и *Scs2*, локализованных в группах сцепления III и V, соответственно (Bogdanova et al., 2009). Аллель *Scs1* культурного гороха в условиях цитоплазмы от дикого гороха ВИР320 является леталью для мужских гаметофитов и спорофитной леталью (Bogdanova et al., 2012), его роль в формoобразовании у гороха представляется очень важной (Ядрихинский, Богданова 2011). Мы локализовали ген ядерно-цитоплазматической несовместимости *Scs1* на генетической карте гороха с довольно хорошей точностью. В эксперименте по картированию данного гена (Bogdanova et al., 2012) расстояние между ближайшими окаймляющими маркерами, *PhlC* и *sym7*, составило около 2,5 сМ. Это позволило проводить поиск генов-кандидатов на молекулярном уровне, используя факт синтении между геномами гороха и *Medicago truncatula* (Kalo et al. 2004). Ген *M. truncatula*, ортологичный *PhlC*, закодирован в последовательности NC\_016409 (*Medicago truncatula* chromosome 3), позиция 22 386 715–22 391 032 и ортолог гена *sym7* – в той же последовательности в позиции с23 538 014–23 539 540. Таким образом, расстояние по геному *M. truncatula* между ортологами упомянутых окаймляющих маркеров гороха составило 1 146 982 п.н., из которых 150 000 п.н. условно приписаны нерасшифрованному участку неизвестной длины. Для поиска генов-кандидатов на роль *Scs1* был получен ряд кроссоверов между маркерами *PhlC* и *sym7*. У этих растений проверяли аллельное состояние ряда молекулярных маркеров с целью локализации точки кроссового обмена. Маркеры, отделимые от *Scs1* кроссинговером, исключали из числа генов-кандидатов. На данный момент длина участка генома *M. truncatula* между генами Gene ID: 11411381 и Gene ID: 11415908, ортологичными ближайшим окаймляющим *Scs1* маркерам гороха, составила около 300 000 п.н.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ И ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ГЕНОФОНДОВ ПОПУЛЯЦИЙ РЕДКИХ И РЕСУРСНЫХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ

С.В. Боронникова<sup>\*1,2</sup>, Н.Н. Бельтюкова<sup>1</sup>, Т.Н. Светлакова<sup>1,2</sup>, И.В. Бобошина<sup>1,2</sup>, Ю.С. Нечаева<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Пермский государственный национальный исследовательский университет (Пермь), Россия

<sup>2</sup>Естественнаучный институт ПГНИУ (Пермь), Россия

\*e-mail: SVBoronnikova@yandex.ru

Одной из задач приоритетного направления «Лесная биотехнология» в рамках комплексной программы развития биотехнологий в Российской Федерации на период до 2020 года является ДНК-маркирование популяций древесных видов растений для создания современной системы управления лесонасаждениями. Для реализации этой цели рекомендуется разработанная нами технология молекулярно-генетической идентификации и оценки состояния генофондов на популяционном уровне наиболее уязвимых в растительных сообществах редких и интенсивно используемых ресурсных видов растений. Для массовой оценки генетического разнообразия на популяционном уровне ресурсных видов растений предложен метод ДНК-фингерпринтинга с использованием высоко полиморфных стабильных молекулярных маркеров. Для идентификации на популяционном уровне нами впервые показана необходимость использовать как минимум двух типов молекулярных маркеров. Для популяций травянистых редких видов растений рекомендуются ISSR- и IRAP-маркеры, а популяций древесных видов растений – ISSR- и SNP-маркеры. Показано, что изученные 12 редких травянистых видов растений Пермского края (из родов *Adenophora*, *Adonis*, *Digitalis*, *Paeonia* и других) характеризуются высоким уровнем генетического разнообразия, а именно доля полиморфных локусов ( $P_{95}$ ) варьировала от 0,800 до 0,920; ожидаемая гетерозиготность ( $He$ ) – от 0,290 до 0,356. Установлено, что у 8 изученных древесных ресурсных видов растений (из родов *Populus*, *Picea*, *Pinus*, *Larix*) показатели генетического разнообразия ниже, чем у редких травянистых видов растений. Так, доля полиморфных локусов ( $P_{95}$ ) варьировала от 0,700 до 0,730; ожидаемая гетерозиготность ( $He$ ) – от 0,122 до 0,190. Для каждой из изученных популяций 20 видов растений выявлены идентификационные маркеры и их сочетания; составлены уникальная молекулярно-генетическая формула, штрихкод и генетический паспорт. Для популяций древесных видов растений обоснована необходимость изучения полиморфизма генов, вовлеченных в процессы роста, развития и формирования практически значимых признаков, таких как процессы формирования клеточной стенки и клеточной дифференциации, устойчивость к водному стрессу и дегидротации, биосинтез лигнина. Обязательным элементом технологии молекулярно-генетической идентификации и оценки состояния генофондов популяций является определение нуклеотидных последовательностей генов или их структурных элементов, выявление и биоинформационный анализ SNP-маркеров, привлечение их для идентификации, внесения в молекулярно-генетическую формулу, штрихкод и генетический паспорт популяции. Выявлены популяции с типичными и специфическими характеристиками генофондов, разработана шкала и дана оценка состояния генофондов, приведены научно обоснованные рекомендации по сохранению генофондов с учетом уровней внутри- и межпопуляционного генетического разнообразия. Таким образом, молекулярно-генетический анализ, молекулярно-генетическая идентификация и оценка состояния генофондов популяций редких и ресурсных видов растений Пермского края позволили создать надежную модельную систему оптимизации сохранения и использования генетической компоненты биологического разнообразия растительных сообществ. Работа выполнена в рамках государственного задания на оказание услуг, частично финансируемых Министерством образования и науки РФ из средств федерального бюджета.

## ЦЕЛОСТНОСТЬ ГЕНОМА КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА МЫШЕЙ ЛИНИИ СВА И ЗООСОЦИАЛЬНЫЕ СТИМУЛЫ

*Т.С. Глинин\**, *А.В. Дукельская*, *Е.В. Даев*

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

*\* e-mail: enjoinan@bk.ru*

Существует большое количество внутриорганизменных регуляторов, которые поддерживают целостность генома клеток всех органов и тканей организма животных. Продукция и распределение этих регуляторов по организму в большой степени зависит от нейро-эндокрино-иммунной системы. В свою очередь состояние этой системы регулируется факторами окружающей среды, среди которых можно выделить группу сигналов зоосоциального происхождения. Они синтезируются организмом животного-донора под контролем нейро-эндокринно-иммунной системы и меняют состояние нервной системы особи-реципиента. К таким межорганизменным регуляторным сигналам можно отнести летучие вещества - феромоны, воспринимаемые организмом реципиента через систему органов обоняния. Известно, что феромоны животных-доноров, как правило, оказывают «негативное» воздействие на особей одноименного с донорами пола, и «позитивно» действуют на особей-реципиентов противоположного пола. Кроме того, существуют стрессорные хемосигналы, действующие неспецифически на животных любого пола. Обнаружено, что одним из таких сигналов «социального неблагополучия» является 2,5-диметилпиразин (2,5-ДМП) выделяемый самками домашней мыши только в условиях переуплотненного содержания. Он вызывает ряд негативных эффектов, указывающих на развитие стресс-реакции в организме реципиента. Были проведены две повторности эксперимента, в ходе которых пять групп самцов мышей подвергали 24-часовому воздействию: (1) «феромоном перенаселенности» 2,5-ДМП, (2) многокомпонентной смесью хемосигналов самок-одиночек (не содержащих 2,5-ДМП по литературным данным), (3) их одновременному сочетанному действию. Животных ещё одной группы (4) перед воздействием 2,5-ДМП подвергали предварительной 24-часовой экспозиции с хемосигналами самок-одиночек. Пятую группу воздействиям не подвергали (контроль). Анализировали влияние используемых воздействий на целостность хромосомного аппарата делящихся клеток костного мозга, который является важнейшим органом гемато- и иммунопоэза. Показано, что «феромон перенаселения» 2,5-ДМП дестабилизирует хромосомный аппарат делящихся клеток костного мозга самцов мышей: общая частота анализируемых повреждений возрастает в 2,5 раза. При действии хемосигналами подстилки самок-одиночек, наоборот, происходит снижение уровня спонтанных аббераций по сравнению с контролем. При одновременном действии 2,5-ДМП и подстилки хемосигналов самок-одиночек изменений уровня хромосомных аббераций не происходит. Предварительное действие хемосигналами подстилки самок-одиночек частично нивелирует повреждающий эффект 2,5-ДМП: уровень аббераций снижается по сравнению с группой самцов, на которых действовали только 2,5-ДМП. Однако частота анализируемых повреждений в этой группе остается достоверно выше контрольной. Таким образом, хемосигналы самок находящихся в различных зоосоциальных условиях по-разному влияют на стабильность хромосомного аппарата делящихся клеток у самцов мышей. Самки мышей, находящиеся в состоянии стресса, вызванного переуплотненным содержанием или иными факторами, могут посредством хемокоммуникационных механизмов распространять информацию о неблагоприятных условиях. Таким образом, стресс-реакция будет распространяться среди особей, получивших данный хемосигнал. Выявленное антагонистичное действие хемосигналов самок-одиночек говорит о важности баланса различных хемосигналов в регуляции физиологического состояния реципиентных особей. Зависимость феромональных эффектов от последовательности применяемых факторов может отражать процессы конкуренции схожих по строению хемосигналов за рецепторы, десенсибилизацию конвергентных путей проведения обонятельных сигналов, а также особенности процессов становления и репарации регистрируемых цитогенетических повреждений. Таким образом, уровень митотических нарушений зависит от баланса феромональных веществ выделяемых в среду животными и времени их появления. В работе показано существование межорганизменного механизма быстрого распространения различных физиологически контрастных состояний внутри групп социально-связанных особей в популяции. Подобные социально-зависимые механизмы с большой долей вероятности могут быть обнаружены и у людей. Работа поддержана грантами ФЦП (ГК 02.740.11.0698) и грантом президента РФ по поддержке ведущих научных школ.

## СОЗДАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ МАРКИРОВАННЫХ ЛИНИЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ С РАЗЛИЧНЫМИ КОМБИНАЦИЯМИ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНОВ *Pp* (*purple pericarp*)

***Е.И. Гордеева\**, *Е.К. Хлесткина***

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

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

У мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.;  $2n = 6x = 42$ , геном ВВААDD) встречается признак фиолетовой окраски зерна, связанный с накоплением в перикарпе зерна пигментов антоцианов. Антоцианы являются природными антиоксидантами и нейтрализуют действие свободных радикалов, образующихся в процессе старения клеток и при стрессе. К настоящему моменту накоплены сведения о взаимосвязи между содержанием антоцианов в перикарпе и улучшением всхожести семян после искусственного старения, а также повышением засухоустойчивости проростков пшеницы. Растет интерес к пшенице с фиолетовым зерном, как к источнику полезных для здоровья человека антиоксидантов.

До настоящей работы у мягкой пшеницы были выявлены 2 доминантных комплементарных гена, контролирующих фиолетовую окраску перикарпа (*Pp-D1* в хромосоме 7D и *Pp3* в хромосоме 2A). В наличии имелись почти изогенные линии с рецессивными или, наоборот, доминантными аллелями сразу в двух комплементарных локусах. Однако для выяснения функции каждого из этих двух пока еще мало изученных генов, а также для более точного контроля в физиолого-генетических исследованиях существовала потребность в изогенных линиях, содержащих комбинации аллелей *Pp-D1pp3* и *pp-D1Pp3*. Для их получения было произведено скрещивание сорта Саратовская 29 (генотип *pp-D1pp3*) с его почти изогенной линией, несущей в обоих локусах доминантные аллели. Отбор нужных линий в F<sub>2</sub> осуществлялся по генотипу (с помощью микросателлитных ДНК-маркеров, тесно сцепленных с генами *Pp*) и по фенотипу (с помощью фенотипического маркера «окраска колеоптиле», тесно сцепленного с *Pp-D1*). Отбор по генотипу позволил получить нужные линии менее чем за один год. Отобранные линии с генотипом *Pp-D1pp3* имели неокрашенный перикарп и вставку генома-донора в хромосоме 7D. Линии с генотипом *pp-D1Pp3* несли ставку только в 2A, но проявляли слабую розовую окраску перикарпа. Мы предположили, что исходный генотип *pp-D1pp3*, использовавшийся в скрещиваниях (сорт Саратовская 29), имеющий в хромосоме 7A кластер генов, контролирующих слабую антоциановую пигментацию вегетативных органов, может содержать не описанный ранее ген *Pp-A1*, гомеологичный гену *Pp-D1* и комплементарный гену *Pp3*. Для проверки этого предположения и для дальнейшего получения генотипов: *pp-A1Pp-D1pp3* и *pp-A1pp-D1Pp3*, произведены скрещивания полученных генотипов с почти изогенной линией сорта Саратовская 29, полностью лишенной антоциановой окраски. Далее для отбора будут также применяться ДНК-маркеры, а отобранные генотипы будут использованы вместе с уже полученными и исходными линиями в экспериментах по искусственному старению семян пшеницы, в тестах на засухоустойчивость и устойчивость к другим видам стресса, а также для исследования транскрипции генов биосинтеза антоцианов в перикарпе. Это позволит точно определить физиологическую роль антоцианов в перикарпе зерна и глубже понять механизмы взаимодействия регуляторных генов биосинтеза антоцианов у пшеницы.

За помощь в работе благодарим ст.лаб-иссл. ИЦиГ СО РАН Г.В. Генералову и ученицу 10 кл. лицея №22 г. Новосибирска Т. Лаппи. Работа поддержана грантом Президента РФ МД-2615.2013.4.

# АРОМОРФОЗЫ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ: ПОЛНОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ НА ПРИМЕРЕ МНОГОКЛЕТОЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

**К.В. Гунбин\***<sup>1</sup>, **Д.А. Афонников**<sup>1,2</sup>

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

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

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

Проанализированы режимы молекулярной эволюции ~2 000 000 уникальных белков из 100 полностью секвенированных организмов, относящихся к 25 таксономическим группам многоклеточных животных (Primates, Glires, Laurasiatheria, Afrotheria, Marsupialia, Monotremata, Dinosauria, Amphibia, Sarcopterygii, Actinopterygii, Agnatha, Tunicata, Cephalochordata, Echinodermata, Lophotrochozoa, Nematoda, Arachnida, Crustacea, Paraneoptera, Hymenoptera, Coleoptera, Lepidoptera, Diptera, Cnidaria, Placozoa). Отношения ортологии были взяты из OrthoDB 6 [1]. Для того чтобы отобрать ортологические группы белков, имеющие эволюционно важные функции, редко утрачиваемые в эволюции, мы выбрали такие группы, которые представлены белками, принадлежащими видам, которые входят  $\geq 5$  таксономических групп, объединенных монофилетическим происхождением. Такие группы мы назвали филогенетически связными ортологическими группами белков (ФСОГБ). В ходе анализа были реконструированы филогенетические деревья ФСОГБ, а также предковые последовательности на каждом внутреннем узле деревьев ФСОГБ. Реконструкция предковых последовательностей производилась с использованием RAXML 7.4.2 на основе: (1) лучшего множественного выравнивания ФСОГБ (выбранного программой AQUA 1.1), не содержащего сайтов насыщенных делециями (удалялись при помощи NOISY 1.5.12), (2) филогенетического дерева ФСОГБ, рассчитанного на основе известного филогенетического дерева видов (с помощью TREEFIX [2]) и (3) рассчитанной для ФСОГБ матрицы относительных скоростей замен аминокислот (MODELESTIMATOR 1.1). Эти предковые последовательности, а также вероятности реконструкции отдельных аминокислот в последовательности, использовались для подсчета числа статистически значимых “наблюдаемых” аминокислотных замен на каждой ветви филогенетического дерева ФСОГБ. Для каждого (из 190 возможных) “наблюдаемого” статистически значимого типа замен аминокислот мы сравнили наблюдаемое число замен с теоретически ожидаемым числом в предположении о стационарном марковском процессе эволюции ФСОГБ. Ожидаемое число замен аминокислот на каждой ветви дерева ФСОГБ было рассчитано при помощи INDELible 1.03. Для каждой ФСОГБ производилось 1000 симуляций. Моделирование эволюции ФСОГБ производилось с учетом таких характеристик как: длина выравнивания, топология и длины ветвей филогенетического дерева, матрица относительных скоростей замен аминокислот, частоты встречаемости аминокислот. Сравнение числа ожидаемых и “наблюдаемых” аминокислотных замен каждого типа проводили с использованием рандомизационного теста [3]. Если число “наблюдаемых” аминокислотных замен определенного типа статистически значимо превышало число ожидаемых замен, делался вывод о наличии атипичных аминокислотных замен в эволюции ФСОГБ. В результате анализа было показано, что внутренние ветви филогенетического дерева многоклеточных животных, характеризующиеся увеличенным количеством ФСОГБ с атипичными ( $p \leq 0,01$ ;  $p \leq 0,05$ ) аминокислотными заменами, строго соответствуют ароморфозам в эволюции как позвоночных, так и беспозвоночных. Наибольшая доля ФСОГБ с атипичными аминокислотными заменами характерна для: (1) этапа полногеномных дупликаций на заре эволюции позвоночных, (2) выхода позвоночных на сушу, (3) дивергенции Amniota, (4) дивергенции примитивных и высших плацентарных млекопитающих, (5) дивергенций Pancrustacea и Insecta; (6) дивергенции нематод. В ходе работы также проведен поиск статистически перепредставленных функций ФСОГБ с атипичными аминокислотными заменами на каждой внутренней ветви филогенетического дерева многоклеточных животных. Это позволило выявить генные сети многоклеточных животных, связанные с ароморфозами.

Работа поддержана грантами РФФИ № 11-04-01771 и 13-04-01008, программами РАН “Происхождение и эволюция биосферы” и А.П.6.8, Интеграционными проектами СО РАН № 39 и 130.

1. Waterhouse R.M. et al., 2013, Nucl. Acids Res., 41:D358-D365.

2. Wu Y.C. et al., 2013, Syst. Biol., 62:110-120.

3. Gunbin K.V., Ruvinsky A., 2013, J. Mol. Evol., 76:28-47.

## ПРОИСХОЖДЕНИЕ МОЗГА ЧЕЛОВЕКА И ЭВОЛЮЦИЯ ТАТА-БОКСОВ БЕЛОК-КОДИРУЮЩИХ ГЕНОВ

**К.В. Гунбин**\*, М.П. Пономаренко

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

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

Одна из величайших загадок эволюционной биологии, состоит в том, какие изменения генов гоминид могли привести к возникновению уникального человеческого мозга. В попытке ответить на этот вопрос мы провели анализ молекулярной эволюции ортологичных генов гоминид, используя данные об их экспрессии в теле человека. Множественные выравнивания регуляторных районов белок-кодирующих генов были взяты из Ensembl 70. Позиции стартов транскрипции были взяты из GENCODE 15 (использованы только экспериментально подтвержденные и аннотированные вручную старты мРНК). Для каждого выравнивания регуляторных районов в каждом внутреннем узле дерева гоминид были реконструированы предковые последовательности (для реконструкции нуклеотидов использовался PAML 4.7, для реконструкции делеций PRANK 121218). После реконструкции предковых последовательностей в анализ были отобраны только такие предковые последовательности, в которых каждая позиция ТАТА-бокса (-68..-13 позиции от старта транскрипции) была реконструирована с вероятностью  $p \geq 0.95$ . Для предсказания активности предковых и современных последовательностей ТАТА-боксов был использован алгоритм, описанный в [1], в котором используется эмпирическое уравнение равновесия для трехступенчатого процесса связывания ТВР/ТАТА: ТВР скользит вдоль ДНК, ТВР останавливается в районе ТАТА-бокса, ТВР/ТАТА-комплекс стабилизируется из-за деформаций в ДНК. В результате анализа были отобраны мРНК, синтезирующиеся с ТАТА-боксов претерпевающих биохимически значимые изменения активности (негативные или позитивные) на каждой из 6 ветвей филогенетического дерева гоминид. Аннотация этих мРНК была выполнена на основе 3 источников экспрессионных данных: Allen Human Brain Atlas, Human Brain Transcriptome (лаборатория Sestan) и Gene Expression Barcode 2.0. Для статистической оценки вклада мРНК, синтезирующихся с ТАТА-боксов, которые в ходе эволюции гоминид претерпевают биохимически значимые изменения активности (тестируемый набор), в функционирование различных тканей мы использовали рандомизационный тест. На основе полного набора мРНК, для каждой ткани, генерировалось  $10^5$  случайных выборок мРНК, размер каждой из которых был равен размеру тестируемого набора мРНК. Затем для каждой (случайной и тестируемой) выборки вычислялась сумма значений экспрессии мРНК. После чего подсчитывалось количество ( $R$ ) сумм значений экспрессии случайных выборок мРНК, которые равны или превышают сумму значений экспрессии тестируемого набора мРНК ( $S$ ). Таким образом, вероятность наблюдения суммы  $S$  по случайным причинам равнялась  $p = R/10^5$ . В результате анализа было обнаружено две глобальные тенденции в эволюции регуляторных районов белок-кодирующих генов гоминид: (1) изменение активности ТАТА-боксов генов, преимущественно экспрессирующихся в коре головного мозга человека, характерно для 4 ветвей - всех предковых ветвей филогенетического дерева гоминид, к *Hominini* (*H. sapiens*, *P. troglodytes*), к *Homininae* (*H. sapiens*, *P. troglodytes*, *G. gorilla*) и к *Hominidae* (*H. sapiens*, *P. troglodytes*, *G. gorilla*, *P. pygmaeus*), а также ветви ведущей непосредственно к *H. sapiens*; (2) активность ТАТА-боксов человека в процессе эволюции изменяется незначительно по сравнению с интенсивными преобразованиями активностей ТАТА-боксов у остальных трех гоминид (*P. troglodytes*, *G. gorilla*, *P. pygmaeus*). Интересно, что первая тенденция хорошо согласуется с постепенным преобразованием коры головного мозга у гоминид, а вторая описывает возможный механизм специализаций мозга *P. troglodytes*, *G. gorilla* и *P. pygmaeus*.

Работа поддержана грантами РФФИ № 13-04-00359 и 13-04-01008, Научной школой № 5278.2012.4, Программами РАН "Молекулярная и клеточная биология» и А.П.6.8, Интеграционными проектами СО РАН № 39 и 130.

1. Ponomarenko P.M. et al., 2008, Dokl. Biochem. Biophys. 419:88-92.

## СКРИНИНГ СОСТОЯНИЯ ГОМЕОСТАЗА В УСЛОВИЯХ НАПРЯЖЕНИЯ ПРИ ИНТЕНСИФИКАЦИИ ЖИВОТНОВОДСТВА

**И.Ю.Ермина**

ФГБОУ ВПО Красноярский государственный аграрный университет (Красноярск), Россия

\*e-mail: irin-ermina@yandex.ru

Биотехнологические приемы уже давно стали неотъемлемой частью селекции животных. Это и искусственное осеменение, и иммуногенетическая экспертиза достоверности происхождения, и контроль на наличие целого ряда известных мутаций (в том числе *BLAD* и *CVM* у крупного рогатого скота). Осознавая, что современная селекция животных - это непрерывные потоки генетической информации, географически мигрирующие и меняющие породный состав животных в сжатые сроки, очень важно «держать руку на пульсе» этого процесса. Огромное влияние оказывает и среда обитания. Новые генотипы реализуются в сложном переплетении технологических режимов содержания и иных природно-климатических условий. Современное состояние сельскохозяйственного производства можно оценить как экстремальное, в искусственно созданных условиях популяции с.-х. животных постоянно испытывают давление антропогенного фактора (генетически опасное и несбалансированное кормление, нарушение в поении и др.). В таких условиях интенсивность давления естественного отбора возрастает. Он проявляется в вынужденной выбраковке высокоценных животных, тем самым тормозит и снижает эффективность искусственного отбора. В связи с необходимостью сохранения генофонда локальных и исчезающих пород, обладающих уникальными адаптационными свойствами, селекция на повышение резистентности животных имеет особое значение. Кроме того, такая селекция – это путь к экологически безопасным технологиям, предотвращающих загрязнение окружающей среды лекарственными препаратами и санитарными средствами, которые могут повлиять на здоровье людей. Продуктивное долголетие сельскохозяйственных животных возможно при условии выявления нарушений гомеостаза, на ранних стадиях их развития, когда еще не наступила деградация сложной системы и патологический процесс может быть обратимым. Опираясь на положительный опыт применения хемилюминисцентного анализа: в изучении закономерностей формирования механизмов иммунологического статуса при развитии патологического процесса (Пухова и др., 1995); в оценке изменений адаптационного потенциала людей при различных функциональных нагрузках (Лесовская., 2003); в оценке влияния оксидативного стресса на иммунитет и старение организма (Семенов и др., 2005), подобные исследования проводятся и на сельскохозяйственных животных. Исследовательский коллектив изучает возможности применения ХЛ анализа в животноводстве в качестве одного из дополнительных индикаторов при скрининге состояния гомеостаза в условиях адаптивной и неадаптивной интенсификации в животноводстве. Мониторинг функциональной активности иммунокомпетентных клеток (ФА ИКК) является одним из перспективных направлений в данной области исследования, на базе которого возможно своевременно прогнозировать ущерб от ошибок при оценке генетической ценности животных, что поспособствует правильной интерпретации направленности и эффективности селекционного процесса. Системный подход, объединяющий индикаторы состояния сложных систем (показатели ХЛГ) с традиционно используемыми индексами, обеспечит создание научно обоснованных рекомендаций по сохранению, использованию, управлению и восстановлению генофонда сельскохозяйственных животных. Для повышения генетически обусловленной продуктивности и продуктивного долголетия с.-х. животных в масштабах Красноярского края, поставлена задача: скрининг состояния гомеостаза (по индикаторам, в том числе ФА ИКК) в условиях напряжения при интенсификации животноводства и птицеводства. На первом этапе были определены закономерности изменения кинетики генерации активных форм кислорода (АФК) клетками периферической крови; выявлены параметры хемилюминограммы (ХЛГ), наиболее адекватно отражающие изменения кинетики ХЛ реакции; на основании статистической обработки первичных данных хемилюминисцентного анализа функциональной активности клеток крови охарактеризовать возрастные, породные особенности кинетики генерации АФК для определения “нормы”. В дальнейшем предложены уточнения для среднестатистических параметров «нормы» хемилюминисцентной кинетики у быков и кроликов. Создана база хемилюминограмм крупного рогатого скота, кроликов, лошадей и собак. Проведена предварительная оценка взаимосвязи индикаторов состояния сложных систем (показатели ХЛГ) с традиционно используемыми в животноводстве показателями продуктивности. Многофакторный анализ выявил наличие закономерностей, имеющих сезонный характер. В настоящее время ведется поиск ответов на ряд проблемных вопросов. Зависят ли параметры хемилюминисцентной кривой от генотипических факторов (порода, линия, экогенез)? Влияют ли паратипические факторы (возраст, сезон) на параметры хемилюминисцентной кривой? Какая изменчивость параметров хемилюминисцентной кривой выше: групповая или индивидуальная? Существуют ли взаимосвязи между параметрами хемилюминисцентной кривой и показателями воспроизводительных способностей, если да, то какова эта зависимость? Сохраняются ли выявленные взаимосвязи в течении жизни, каковы доверительные интервалы этой взаимосвязи, передаются ли они по наследству? Имеют ли выявленные закономерности видовую принадлежность? Все это в целом позволит улучшить качество племенного селекционного материала, за счет понижения уровня отягощенности генетическим грузом и уменьшения процессов дезинтеграции адаптационных комплексов у азличных линий, семейств, кроссов, пород животных и птицы, в том числе, у вновь создаваемых.

## ОЦЕНКА ВРЕМЕНИ ДИВЕРГЕНЦИИ И ПОПУЛЯЦИОННОЙ ДИНАМИКИ В РОДЕ *Pisum L.* ПРИ ПОМОЩИ ГЕНОВ ГИСТОНА H1

О.О.Зайцева\*<sup>1,2</sup>, К.В.Гунбин<sup>1</sup>, О. Э. Костерин<sup>1,2</sup>

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

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

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

Эволюционные взаимоотношения диких и культурных форм гороха (*Pisum L.*) представляют большой интерес для реконструкции картины происхождения культурных форм этой сельскохозяйственной культуры. В настоящей работе у 56 образцов диких и культурных форм гороха были определены нуклеотидные последовательности генов *His5* и *His7*, кодирующих субтипы 5 и 7 гистона H1 соответственно. В набор исследованных образцов вошли представители всех основных таксонов, выделяемых в роде: *Pisum fulvum*, *P. abyssinicum* и *P. sativum*. Гены гистона H1 достаточно вариабельны и могут быть использованы в качестве молекулярных маркеров для филогенетических реконструкций на меж- и внутривидовом уровнях. Субтип 7 интересен тем, что он присутствует только в хроматине активно растущих тканей, в то время как субтип 5 обнаруживается на протяжении всей жизни растения. Гены *His5* и *His7* находятся в одной группе сцепления на расстоянии около 40 сМ. На основании полученных данных, было реконструировано филогенетическое дерево *Pisum L.* с использованием Байесовского подхода, реализованного в программном продукте MrBayes 3.2.1. При реконструкции дерева использовалась НКУ модель нуклеотидных замен, а также дискретизированное гамма-распределение сайтов нуклеотидного выравнивания по скоростям происходящих в них замен. На полученном дереве выделяются три основных ветви, образованные: 1) видом *P. fulvum*; 2) культивируемым *P. abyssinicum* и частью диких форм; 3) частью диких форм *P. sativum* subsp. *elatius* и культурными представителями *P. sativum* subsp. *sativum*. Оценка времени дивергенции родов *Pisum L.* и *Vavilovia Fed.* позволила определить времена дивергенции основных клад *Pisum L.* Оценка времен дивергенции клад *Pisum L.* осуществлялась при помощи программы BEAST 1.7.5, использовались две модели коалесценции - Bayesian skyline и Extended Bayesian Skyline. В результате анализа было показано, что наиболее ранняя дивергенция внутри рода *Pisum L.* между кладами 1 и {2,3} произошла 2.5±0.11 млн. лет назад, а наиболее поздняя между кладами 2 и 3 – 1.2±0.08 млн. лет назад. Таким образом, основные дивергенционные события в роде *Pisum L.* происходили либо в раннем плиоцене, либо в позднем плейстоцене, во время значительного похолодания климата в северном полушарии. Горох является преимущественным самоопылителем, его дикие популяции невелики и поток генов между ними ограничен, однако его предки являются перекрестноопылителями. Интересен и вопрос о происхождении самоопыления в роде *Pisum L.* Для более детального анализа популяционной динамики рода, оценки эффективной численности предковых популяций и возможных направлений, а также скоростей межпопуляционной миграций были использованы пакет R Jaatha 2.0.1 и программа IMa2. Скорость фиксации мутаций при моделировании составляла 0.00004 замен на ген на поколение, использовались полученные в настоящей работе времена дивергенции клад *Pisum L.* Было показано, что в ходе эволюции рода *Pisum L.* обмен генов в результате миграции и эффективная численность популяций сокращались до пренебрежимо малых значений. Это может свидетельствовать о постепенном вытеснении перекрестного опыления самоопылением в ходе эволюции *Pisum L.*



## ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ ДНК ЕЛИ ЕВРОПЕЙСКОЙ БУГСКО-ПОЛЕССКОГО ГЕОБОТАНИЧЕСКОГО ОКРУГА

**Д.И. Казан\*, О.Ю. Баранов**

*Институт леса НАН Беларуси (Гомель), Беларусь*

*\*e-mail: quercus-belarus@mail.ru*

Ель европейская (*Picea abies* (L.) Karst.) является одним из наиболее распространенных и ценных хвойных видов в Европе. Естественный ареал ели европейской представлен двумя большими областями – северной, включающей Фенноскандию, Прибалтику, Беларусь и европейскую часть России, и южной, охватывающей большую часть Центральной Европы и горных районов Южной Европы. Считается, что на территории Бугско-Полесского геоботанического округа (юго-западная часть Беларуси), вследствие распространения ели в среднем и позднем голоцене, произошло вначале смыкание бореального (северо-балтийского) и карпатского (герцинско-карпатского) миграционных потоков, а затем их разъединение с образованием бореально-карпатской дизъюнкции ареала вида. В настоящее время ельники округа представлены немногочисленными локальными местообитаниями, а по его северной окраине проходит южная граница сплошного распространения ели европейской. Новые сведения о генетических процессах, происходящих на данной территории, позволяет получить анализ цитоплазматических генетических маркеров. Известно, что у хвойных видов митохондриальный геном наследуется по материнской линии, а хлоропластный – по отцовской. Генетическая изменчивость цитоплазматических маркеров исследована в шести приспевающих и спелых островных насаждениях Бугско-Полесского округа, а также в двух популяциях краевой части сплошного распространения ели европейской бореальной области. Для генетического анализа митохондриальной ДНК использовали участок локуса *mt15-D02* (номер в Генетическом Банке AY897577). Проанализированные деревья дифференцировались на два митотипа: карпатский (величина ПЦР-продукта *mt15-D02* составляла 1249 п.н.) и бореальный (753 п.н.). Показано, что на территории изученного региона повсеместно произрастает карпатский митотип, выявленный в составе всех проанализированных насаждений. Частота встречаемости карпатского митотипа снижалась в северо-восточном направлении от 100% (четыре островных насаждения южной окраины округа) до 40% (популяция из краевой части сплошного распространения). Бореальный митотип выявлен лишь в четырех насаждениях, и только в одном его удельная доля была выше, чем у карпатского митотипа (60%). Полученные данные свидетельствуют о том, что на территории Бугско-Полесского геоботанического округа в период постледниковой реколонизации ареала ели европейской произошло перекрытие двух миграционных потоков с преимущественным сохранением в настоящее время в виде островных насаждений карпатского митотипа. Генетический анализ хлоропластной ДНК проводили с использованием трех микросателлитных маркеров (*Pt 26081*, *Pt 63718* и *Pt 71936*). Для проанализированных локусов суммарно выявлено 12 аллелей. Два аллеля обнаружено в локусе *Pt 63718*, по пять – в локусах *Pt 26081* и *Pt 71936*. Сочетание размерных вариантов аллелей в локусах позволило выявить в восьми изученных насаждениях 14 хлоротипов, четыре из которых встретились в единственном числе (были уникальные). Частота встречаемости хлоротипов варьировала от 0,021 до 0,207. Показано, что, в целом, исследованные популяции характеризуются высокими значениями параметров внутривидовой изменчивости. Сравнительный анализ доминирующих хлоротипов, выявленных в Бугско-Полесском геоботаническом округе, с результатами исследований европейских ученых по гаплотипическому разнообразию современного ареала ели европейской показал, что на территории изученного региона распространены хлоротипы, характерные для генетических зон как бореальной (северо-балтийской), так и карпатской (герцинско-карпатской) областей. Результаты исследования являются перспективными для разработки дальнейших программ лесовосстановления и лесоразведения ели европейской в условиях прогнозируемых климатических изменений.

## АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА МУЦИНА 19 С РАЗВИТИЕМ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У РУССКИХ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ПОЛНОГЕНОМНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

*А.С. Карунас\**<sup>1</sup>, *Б.Б. Юнусбаев*<sup>1</sup>, *Ю.Ю. Федорова*<sup>1</sup>, *Э.И. Эткина*<sup>2</sup>, *Ш.З. Загидуллин*<sup>2</sup>, *Э.К. Хуснутдинова*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН (Уфа), Россия

<sup>2</sup>ГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет (Уфа), Россия

\*e-mail: carunas@list.ru

Бронхиальная астма (БА) – распространенное хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, в котором играют роль многие клетки и клеточные элементы. БА имеет сложную многофакторную природу и развивается при взаимодействии многочисленных генетических и средовых факторов риска. Во всем мире ведется активный поиск генов предрасположенности к БА, что связано как с несомненной актуальностью, так и с появлением новых возможностей генетических исследований. Целью настоящей работы явился полногеномный анализ ассоциации (ПГАА) однонуклеотидных полиморфных локусов (ОНП) с развитием БА у русских. Материалом для исследования служили образцы ДНК 160 неродственных больных БА и 152 индивидов контрольной группы русской этнической принадлежности, проживающих в Республике Башкортостан. Генотипирование 610000 ОНП проведено с использованием Illumina Human610 quad array в рамках проекта Евросоюза GABRIEL (контракт № LSHB-CT-2006-018996). Наиболее выраженные различия между больными БА и контролем выявлены по полиморфным локусам гена *MUC19*, кодирующего гель-продуцирующий муцин 19 и локализованного в области 12q12. *MUC19* экспрессируется в клетках подслизистых желез трахеи и слюнных желез, участвует в формировании селективного слизистого барьера между клетками эпителия дыхательных путей и внешней средой. Наиболее высокий уровень ассоциации БА обнаружен с ОНП rs2933346 (с.4048+292Т>G), расположенным в 52 интроне гена *MUC19*. Частота аллеля rs2933346\*G у больных БА значительно выше (85,25%), чем в контрольной группе (68,53%) ( $p=2,59 \times 10^{-6}$ ; OR=2,65 (CI95% 1,75-4,02)). Семь ОНП гена *MUC19* (rs1492313 (p.Arg1524Lys), rs2588401 (p.Ala1734Thr), rs2588402 (p.Ala1770Thr), rs2638863 (p.Pro1785Thr), rs2638864 (p.Thr1878Ile), rs1352940 (с.16916-41G>A), rs2933373 (с.17123-477G>A)) ассоциированы с БА с одинаковым уровнем значимости ( $p=4,96 \times 10^{-6}$ ). Установлено, что все они находятся в тесном неравновесии по сцеплению и входят в один гаплотипический блок размером около 29 т.п.н. Анализ гаплотипов 12 ОНП, входящих в данный блок, показал, что гаплотип GAAAATTAAAGTA (rs2933346-rs1492313-rs2588401-rs2588402-rs2638863-rs2638864-rs2638880-rs2920833-rs1352940-rs17597637-rs719228-rs2933373) является маркером повышенного риска развития БА у русских: его частота у больных составила 68,8%, в контроле - 50,0% ( $p=4,96 \times 10^{-6}$ ). С целью репликации результатов полногеномного анализа ассоциации нами проведено исследование ОНП rs1492313 (с.4571G>A (p.Arg1524Lys)) гена *MUC19* в независимой выборке больных БА (104 чел.). Подтверждена ассоциация БА с аллелем А данного локуса, обнаруженного с частотой 63,46% у больных из новой выборки и 50,0% в контроле ( $p=0,018$ ; OR=1,74 (CI95% 1,1-2,75)). Таким образом, проведенный полногеномный анализ ассоциации показал наличие выраженной ассоциации БА у русских с ОНП, локализованными в гене муцина 19 (12q12). Ранее, по данным литературы, ассоциация БА и каких-либо других АЗ с данной областью и геном *MUC19* не была выявлена ни в одной популяции. *MUC19* является относительно недавно клонированным и просеквенированным геном среди всех муцинов, и результаты исследований по изучению его полиморфных вариантов, экспрессии в различных тканях и органах весьма ограничены. Однако, его структурное сходство с другими гель-продуцирующими муцинами, экспрессирующимися в респираторном тракте, и обнаруженная нами выраженная ассоциация его полиморфных вариантов с развитием БА дают возможность предположить, что *MUC19* играет важную роль в формировании предрасположенности к этому заболеванию.

## ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ АРОМАТИЧЕСКИХ ДЕГИДРОГЕНАЗ У РЖИ И ПШЕНИЦЫ И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ПРИЗНАКИ РАСТЕНИЙ

А.А. Коновалов\*<sup>1</sup>, И.К. Шундрин<sup>2</sup>, Е.В. Карпова<sup>2</sup>, В.И. Маматюк<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>ФГБУН Новосибирский институт органической химии СО РАН (Новосибирск), Россия

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

Формирование вторичных клеточных стенок у растений контролируется генами углеводного и ароматического метаболизма. У всех сосудистых растений образуется склеренхима – ткань, придающая стеблям механическую прочность (жесткость или ригидность). Ее образование связано с синтезом и отложением во вторичных клеточных стенках лигнина – трехмерного полимера, состоящего из монолигнолов - ароматических спиртов, в основном кониферилового, кумарового и синапового. Этот биохимический механизм возник примерно 400 млн лет назад, в раннем Силуре, у плаунов (современный класс *Lycopodiopsida*), и в дальнейшем стал основным в эволюции наземной флоры. Все таксоны с лигнифицированными стеблями объединяют в отдел сосудистые растения *Tracheophyta*. Конечная стадия образования монолигнолов — восстановление ароматических альдегидов до соответствующих спиртов - контролируется семейством ферментов под общим названием ароматические алкогольдегидрогеназы (AADH). Последние два десятилетия преимущественно используется аббревиатура CAD (cinnamil alcohol dehydrogenase, дегидрогеназа коричневого спирта, ЕС 1.1.1.195). Полиморфизм по генам, контролирующим эти ферменты, изучали у многих видов растений, как травянистых, так и древесных. Растения с различными генотипами по генам CAD различаются по многим признакам, связанным с ростом и развитием растений, такими как длина побега, механическая прочность, сроки развития, кущение и ветвление и другие. Используются полиморфные варианты, обнаруженные в популяциях, полученные с помощью искусственного мутагенеза, а также трансгенные генотипы. Практическое направление этих исследований связано с получением растений, удобных для технологического использования (кормовые растения, энергетические растения, быстрорастущие формы для зеленых насаждений, и др.). При изучении коллекций ржи и пшеницы были обнаружены образцы с различиями в спектрах CAD. Различия были как по подвижности, так и по активности. С помощью гибридологического анализа установлена локализация гена *Aadh1* в хромосоме 5 ржи. Локус *Aadh1* сцеплен с локусами *bs* (стекловидная соломина) и *Skdh* (шикиматдегидрогеназа). У диплоидной пшеницы *Triticum monocossum* L. сцепленные гены *Aadh1* и *awl* (безостость) также могут быть расположены в хромосоме 5. Функциональные различия изучали по физико-химическим свойствам стеблей (соломин) растений с различными генотипами по локусу *Aadh1*. Обнаружены различия по механическим свойствам стеблей диплоидной пшеницы. Деформация начала разрушения ткани у гомозигот FF значительно превосходит этот показатель у гомозигот OO. Это свидетельствует о более высокой механической прочности функциональных гомозигот FF. Гетерозиготы имеют значение деформации, близкое к среднему между значениями гомозиготных классов, что свидетельствует о неполном (промежуточном) доминировании функционального аллеля над нулевым. У ржи были получены растения, различающиеся по вариантам CAD и по гену *bs* (ломкость стебля). Анализ компонентного состава лигнина выявил различия между растениями с различными комбинациями аллелей по данным генам. Этот результат свидетельствует о взаимодействии генов, контролирующих формирование побегов. У мягкой пшеницы полиморфизм приводит к появлению дополнительной зоны активности в «быстрой» части спектра. Растения, гомозиготные по аллелям CAD, различаются по некоторым признакам. Дополнительная зона активности CAD у мягкой пшеницы наследуется моногенно. Гомозиготы FF и OO из поколения F<sub>3</sub> различались между собой по некоторым признакам. Полученные результаты свидетельствуют, что полиморфизм генов CAD у пшеницы и ее ближайших родственников носит функциональный характер. Обнаруженные различия могут быть использованы в селекционно-генетических исследованиях таких признаков, как устойчивость к полеганию, кормовые свойства соломы и скорость развития.

## ИЗУЧЕНИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ СОВМЕСТИМОСТИ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА ГОРОХ (*Pisum* L.) В РЕЦИПРОКНЫХ СКРЕЩИВАНИЯХ ПО ДИАЛЛЕЛЬНОЙ СХЕМЕ

**О.Э. Костерин\*, В.С. Богданова**

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

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

Биологическая концепция вида, основанная на репродуктивной совместимости конспецифичных особей, делает эту категорию достаточно объективной. Однако эта концепция не работает для организмов, для размножения которых достаточно единственного родителя. Горох размножается преимущественно, но не исключительно путем самоопыления, тем самым попадая на границу применимости биологической концепции вида. Как следствие, выделение видов в роде горох (*Pisum* L.) всегда вовлекало определенную субъективную составляющую. В пределах рода зафиксированы многие случаи репродуктивных барьеров различной силы, причем частично несовместимые группы не всегда совпадают с выделяемыми в настоящее время или выделявшимися в прошлом видами. В качестве факторов несовместимости названы реципрокные транслокации, конфликт ядра и пластид, не исключены также конфликты ядерных генов. Для выявления и количественной оценки по возможности большего числа случаев репродуктивной несовместимости с целью их последующего генетического анализа, нами было выбрано восемь образцов гороха, представляющих большинство эволюционных линий рода, которые были скрещены по диаллельной схеме, все со всеми в реципрокных комбинациях, не менее 30 скрещиваний в каждой, а также сами с собой. Всего было скрещено 2017 цветков. Эффективность скрещиваний,  $e$ , как среднее число семян, полученных от скрещенного цветка, сравнивалась в реципрокных комбинациях скрещиваний, фертильность пыльцы и плодовитость сравнивалась у реципрокных гибридов  $F_1$ , одновременно высеянных в теплице, эта работа еще продолжается. На данный момент проанализированы результаты скрещиваний с участием культурного гороха *Pisum sativum* subsp. *sativum*. Считалось, что *Pisum fulvum* несовместим с прочими горохами при использовании его как материнского растения, однако нами получены такие гибриды с очень низким выходом ( $e = 0,08$ ), причем они демонстрировали мозаичный хлороз и образовывали немногие семена лишь при попадании в зиготу отцовских пластид, выход реципрокных гибридов был вдесятеро выше ( $e = 0,76$ ), гибриды были вегетативно нормальны, но низкофертильны. Такой же мозаичный хлороз и двурядительское наследование пластид наблюдались при опылении пыльцой культурного гороха линии VIR320 (*Pisum sativum* subsp. *elatius*). Скрещивания с культурным горохом в качестве материнского растения были эффективны, за одним ярким исключением – полной несовместимостью с образцом L100 (*Pisum sativum* subsp. *elatius* var. *pumilio*), причем семенная оболочка развивалась нормально при абортивных зародышах; в реципрокных же скрещиваниях выход гибридов был высокий. В скрещиваниях в обоих направлениях с образцом CE1 (*Pisum sativum* subsp. *elatius*) из Крыма фертильность пыльцы у гибридов  $F_1$  не страдала, таким образом CE1 – единственный дикий образец, который показал полную совместимость с культурным горохом. Нормальная фертильность пыльцы также наблюдалась у гибридов при использовании образцов Л1794 (*Pisum sativum* subsp. *elatius* var. *pumilio*) и VIR320 в качестве отцовских растений. В скрещиваниях с другими образцами фертильность пыльцы была в той или иной степени снижена, причем в разной степени в реципрокных направлениях. Таким образом, уже первые результаты опыта говорят о том, что картина репродуктивной совместимости в роде *Pisum* носит сложный характер и с трудом вписывается в биологическую концепцию вида, которой, возможно, следует предпочесть филогенетическую концепцию либо применять для таксономии рода субъективный, практически ориентированный подход.

## АНАЛИЗ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *IL-4* (-590 C>T) С ВОЗНИКНОВЕНИЕМ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ, ПРОЖИВАЮЩИХ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Э.В. Крупнова\*<sup>1</sup>, Е.П. Михаленко<sup>1</sup>, Н.В. Чеботарева<sup>1</sup>, Н.Н. Чакова<sup>1</sup>, С.С. Ниязова<sup>1</sup>, А.Н. Щаюк<sup>1</sup>, Л.М. Беляева<sup>2</sup>, Н.В. Микульчик<sup>2</sup>, Н.И. Панулина<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>Белорусская медицинская академия последипломного образования (Минск), Беларусь

\*e-mail: n.chakova@igc.bas-net.by

Атопическая бронхиальная астма (БА) – одно из наиболее распространенных и тяжелых мультифакторных заболеваний. По официальной статистике МЗ РБ в Беларуси этим заболеванием болеет около 0,5% населения. БА имеет сложную многофакторную природу и развивается при взаимодействии факторов окружающей среды и наследственной предрасположенности. Раскрытие деталей этиологии и патогенеза БА привело к пониманию важной роли в этих процессах интерлейкинов, которые ответственны за индукцию и поддержание воспаления при данном заболевании. Интерлейкин 4 (*IL-4*) является ключевым цитокином в развитии аллергического воспаления. Несмотря на многочисленность генетических исследований аллергических заболеваний, полученные результаты достаточно противоречивы и характеризуются наличием выраженных межэтнических различий. Целью исследования явилось изучение ассоциации полиморфного варианта (-590C>T) гена *IL-4* с риском возникновения атопической БА у детей, проживающих в Республике Беларусь. Методом ПЦР-ПДРФ проведен анализ полиморфизма (-590C>T) в промоторной области гена *IL-4* у 231 ребенка в возрасте от 3 до 18 лет, страдающих атопической бронхиальной астмой и у 111 детей без признаков аллергической патологии соответствующего пола и возраста (контрольная выборка). В связи с тем, что у больных с БА наблюдались изолированная форма БА и в сочетании с другими атопическими патологиями, анализ распределения генотипов проводили как в общей группе пациентов, так и в каждой из следующих групп: 1) изолированная форма БА – (составила 32,9% от всех пациентов; 2) БА и аллергический ринит (АР) – 42,4%; 3) БА и атопический дерматит (АтД) – 6,9%; 4) БА с АР и АтД – 14,7%. Об ассоциации генотипов с предрасположенностью к БА судили по величине отношения шансов Odds Ratio (OR). При сравнении частот генотипов применяли стандартный критерий  $\chi^2$  Пирсона. Сравнительный анализ распределения генотипов (-590C>T) гена *IL-4* в группе пациентов со всеми формами БА и в контрольной группе показал, что генотип 590ТТ в группе больных БА встречается достоверно в 7,7 раза чаще, чем среди здоровых детей ( $p=0,03$ ; OR=8,19 (CI95%: 1,07-62,54)), т.е. у носителей этого генотипа повышен риск возникновения БА. Носители генотипа 590СС встречались достоверно чаще в контрольной группе ( $p=0,022$ ; OR=0,56 (CI95% 0,36-0,9)), что указывает на протективную роль данного генотипа в отношении возникновения БА. В каждой из выделенных групп с различными формами БА при анализе распределения генотипов наблюдалась аналогичная картина, при этом в группе пациентов с изолированной формой БА генотип 590СС встречался достоверно реже ( $p=0,022$ ; OR=0,47 (CI95% 0,26-0,86)), а в группе пациентов БА+АР генотип 590ТТ выявлялся достоверно чаще ( $p=0,022$ ; OR=11,12 (CI95% 1,38-89,47)), чем в контрольной группе. В группах пациентов БА+АтД и БА+АР+АтД проведенный анализ не выявил достоверных различий с контрольной, однако это может быть связано малочисленностью этих групп.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНОВ ЦИТОКИНОВОЙ СИСТЕМЫ ПРИ НЕВЫНАШИВАНИИ БЕРЕМЕННОСТИ

***Е.В. Машикина\****, К.А. Коваленко, Н.В. Фомина

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

\*e-mail: lenmash@mail.ru

Дисрегуляция в функционировании цитокинов, в том числе обусловленная генотипом, может быть негативным фактором для протекания ранних этапов эмбриогенеза человека. В работе проведен анализ ассоциации полиморфных вариантов генов цитокинов (-31С-Т *IL-1 $\beta$* , -174G-С *IL-6*, -592С-А, -819С-Т гена *IL-10*, -308G-А гена *TNF $\alpha$* ) с нарушением ранних этапов эмбрионального развития человека. Материалом для исследования служили образцы ДНК 62 женщин с неразвивающейся беременностью (НБ) и 60 женщин со спонтанным аборт (СА). В контрольную группу вошли 114 женщин с нормально протекающей беременностью. В результате исследования выявлены статистически значимые отличия в частотах генотипов по полиморфизму -31С-Т гена *IL-1 $\beta$*  в клетках крови между двумя группами женщин с патологией беременности в I триместре (НБ и СА) ( $\chi^2=7.78$ ,  $p=0.02$ ). В группе женщин со СА количество гомозигот по аллели -592С гена *IL-10* снижено, а доля гетерозиготных носителей полиморфизма -592С-Т гена *IL-10* повышена по сравнению с контролем. Распределение частот генотипов у женщин с НБ соответствует контрольному. Частота аллели -819Т гена *IL-10* среди женщин со СА достоверно выше по сравнению с группой контроля. Выявлены статистически значимые отличия в частотах генотипов по полиморфизму G-308А гена *TNF* в клетках крови между группой женщин со СА в I триместре и контрольной группой ( $\chi^2=6.96$ ,  $p=0.03$ ). Также выявлены статистически значимые отличия в частотах генотипов и аллелей по полиморфизму G-308А гена *TNF* между двумя группами женщин с патологией беременности (НБ и СА). Анализ экспрессии генов *IL-1 $\beta$* , *IL-6*, *IL-10* и *TNF- $\alpha$*  в хорионической и децидуальной ткани показал, что экспрессия гена *IL-1 $\beta$*  выше, а *IL-6* ниже при невынашивании беременности по сравнению с нормально протекающей беременностью. Изменение уровня экспрессии *IL-6* и *IL-1 $\beta$*  может предрасполагать к нарушению ранних этапов эмбрионального развития из-за дисбаланса материнского иммунного ответа, влияющего на ремоделирование децидуальной ткани и кровеносных сосудов или нарушать регуляцию дифференцировки и инвазии трофобласта.

## АССОЦИАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА ФЕРМЕНТОВ I И II ФАЗЫ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ С РИСКОМ ВОЗНИКНОВЕНИЯ РАКА ЯИЧНИКОВ

Е.П. Михаленко<sup>\*1</sup>, Н.Н. Чакова<sup>1</sup>, Э.В. Крупнова<sup>1</sup>, Н.В. Чеботарева<sup>1</sup>, С.С. Ниязова<sup>1</sup>, Ю.Е. Демидчик<sup>2</sup>, С.Е. Шелкович<sup>2</sup>, Е.Н. Шлома<sup>3</sup>

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

<sup>2</sup>Белорусская медицинская академия последипломного образования (Минск), Беларусь

<sup>3</sup>УЗ «Минский городской клинический онкодиспансер» (Минск), Беларусь

\*e-mail: michalenko75@mail.ru

Рак яичников (РЯ) является одним из распространенных онкозаболеваний женской репродуктивной системы. Причины и механизмы возникновения большинства опухолей яичников остаются малоизученными. В настоящее время все чаще обсуждается влияние гормонов (в первую очередь эстрогенов) на развитие и/или прогрессирование РЯ. Согласно современным представлениям возможны два основных типа гормонального канцерогенеза: промоторный или физиологический, когда действие гормонов сводится к роли своеобразных кофакторов, усиливающих пролиферацию клеток (стадия промоции); и генотоксический, когда гормоны или их производные оказывают непосредственное действие на ДНК, способствуя индукции мутаций и инициации опухолевого роста. Известно, что в метаболизме эстрогенов ключевую роль играют ферменты I и II фазы биотрансформации ксенобиотиков. Любое нарушение в системе метаболизма эстрогенов может привести к изменению содержания эстрогенов и их метаболитов, являющихся эндогенными канцерогенами, и стать одной из причин возникновения злокачественных опухолей. При этом индивидуальные различия в активности ферментов метаболизма эстрогенов могут быть обусловлены полиморфизмом генов, кодирующих эти ферменты. Целью исследования было изучение влияния генетического полиморфизма *CYP1A2*, *GSTM1*, *GSTT1* и *GSTP1* на риск возникновения серозного рака яичников. Материалы и методы. В исследование были включены 135 пациенток с диагнозом серозный рак яичников, которые были обследованы и прошли лечение в Минском городском клиническом онкологическом диспансере с июля 2008 г. по март 2011 г. Возраст больных варьировал от 18,7 до 83,5 лет, составлял в среднем 57,8 года. Контрольная группа состояла из 126 женщин без онкопатологии, проживающих в г. Минске. При формировании данной выборки использовался метод направленного подбора с учетом возраста, пола, профессиональной принадлежности для элиминации влияния факторов, заведомо изменяющих вероятность развития заболевания. С использованием методов ПЦР-ПДРФ и мультиплексной ПЦР проведено изучение полиморфизма генов: *CYP1A2* (С734А), *GSTP1*(G313А), *GSTT1* (делеция), *GSTM1* (делеция). Об ассоциации генотипов с предрасположенностью к РЯ судили по величине odds ratio (OR). При сравнении частот генотипов применяли стандартный критерий  $\chi^2$  Пирсона. Результаты. Молекулярный анализ генетического полиморфизма С734А гена *CYP1A2* в группе больных РЯ показал, что частота встречаемости генотипа 734СС, определяющего низкую активность фермента *CYP1A2*, составила 10,4% и была достоверно выше в 4 раза, чем в контрольной группе (OR=4,74; 95%CI: 1,33 – 16,92). Анализ ассоциации генетического полиморфизма ферментов II фазы биотрансформации ксенобиотиков с предрасположенностью к возникновению серозного рака яичников выявил наличие повышенного риска развития данного заболевания у женщин с комбинацией генотипов *GSTT1*(-)/*GSTM1*(+) (OR=2,96; 95%CI: 1,20 – 7,26). Таким образом, полученные результаты демонстрируют влияние полиморфных вариантов генов *CYP1A2*, *GSTT1* и *GSTM1* на риск развития серозного РЯ.

## **СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ПО СОДЕРЖАНИЮ КЛЕЙКОВНЫ СРЕДИ СОРТОВ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ, ВОЗДЕЛЫВАВШИХСЯ В СИБИРИ В XX ВЕКЕ**

***Е.В. Морозова\**, Т.А. Пшеничникова, Е.К. Хлесткина, А.К. Чистякова, Л.В. Щукина**

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

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

Отсутствие генетических характеристик коллекций пшениц в генетических банках не позволяет селекционерам полноценно использовать это многообразие в своих работах. В мире проводятся работы по выборочному гено- и фенотипированию отдельных образцов. В России генотипирование отечественных сортов мягкой пшеницы с использованием микросателлитных (SSR) маркеров проведено Е.К. Хлесткиной и её коллегами. Ими было выделено две группы, различающиеся по аллельному составу маркёров. Одна группа, преимущественно, включала сорта, созданные до 1960 года, другая – созданные после 1960. Это свидетельствует о качественном сдвиге генетического разнообразия сортов мягкой пшеницы в Сибири, произошедшем в 60-е годы прошлого столетия. Целью данной работы было изучение количественной и качественной структуры двух агрономически важных признаков у сортов различного времени создания и установление генетически обусловленных различий изучаемых признаков. Коллекция из 45 яровых пшениц разделена на две группы: группа 1 – сорта, созданные до 1960 г, группа 2 – сорта, созданные после 1960 г. Оценка генотипов велась по признаку содержание сырой клейковины в зерне в соответствии с технологическими нормами оценки сортов, принятыми в России. Для обработки данных использованы методы многомерной статистики. Двухфакторный дисперсионный анализ показал, что среднее значение содержания клейковины в 1 группе достоверно выше, чем в группе 2. При этом влияние генотипа на признак содержание клейковины в зерне в группе 1 оказалось выше, чем в группе 2. Методом многомерного неметрического шкалирования определены границы изменчивости групп сортов, а кластерный анализ позволил ранжировать группы сортов, со сходным проявлением признака. Корреляционный анализ позволил установить достоверные частоты встречаемости аллелей микросателлитных локусов с определённым уровнем содержания клейковины в группах. Высокое содержание клейковины в зерне ассоциировано на хромосомах 2DS с маркёром *Xgwm0261*, и 7AS с маркёром *Xgwm0631*. Маркёр *Xgwm0357* на хромосоме 1A ассоциирован с низким содержанием клейковины в зерне. Группы сортов, созданные в Сибирском регионе до 1960 г. и после 1960 г. различаются по фенотипическому проявлению признака «содержание сырой клейковины в зерне». Только два сорта - Цезиум 111 и Сибирка 1818, созданные до 1960 г., несут аллель микросателлитного локуса в хромосоме 2D, ассоциированный с высоким содержанием сырой клейковины в зерне. Второй микросателлитный маркёр высокого содержания клейковины, обнаруженный в хромосоме 7A, преимущественно встречается у сортов, созданных до 1960 г. Аллель микросателлитного локуса в хромосоме 1A, ассоциированный с низким содержанием клейковины в зерне, в основном, встречается у сортов, созданных после 1960 г.



## ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСНОВ ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ НА МОДЕЛЬНОМ ОБЪЕКТЕ *Musca domestica* L.

**Р.Ш. Мустафина\*, Г.В. Беньковская**

ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН (Уфа), Россия

\*e-mail: bengal2@yandex.ru

Остается невыясненным, какова генетическая основа сложного признака продолжительности жизни. Комнатная муха *Musca domestica* L. входит в ряд объектов, на которых исследуются генетические основы резистентности к инсектицидам, фотопериодической регуляции поведенческой активности, механизм определения пола. Комнатная муха является также замечательным объектом для исследования генетического полиморфизма и популяционной структуры. В результате селекции нами получены инбредные линии комнатной мухи, достоверно различающиеся по продолжительности жизни. Средняя продолжительность жизни в линиях Sh28 и L2 составляет 25 и 45 суток соответственно. Установлены различия между особями из этих линий на всех этапах онтогенеза в чувствительности к инсектицидам разных классов, к изменениям фотопериода, повышению и понижению температуры окружающей среды, имеющие, по всей видимости, генетическую основу. Для оценки различий в генотипах и уровня генетического полиморфизма использовали метод полимеразной цепной реакции (RAPD-PCR). Затем мы провели 2 попарных сравнения в программе PopGene: по полу и между линиями. Значение среднего межгруппового разнообразия (GST) для сравнения линий составило 0,0876, в то время как при сравнении по полу получено значение 0,036. Данный результат показывает значительную дифференциацию между линиями и по частотам аллелей. Для исследования был выбран праймер LD5. Этот праймер отличается большим количеством получаемых полиморфных локусов (Sidorenko, 2002). Выявлено четыре полиморфных локуса с длинами фрагментов 1155, 475, 203 и 422 пар нуклеотидов. Выявлены достоверные различия по частоте встречаемости генотипов между линиями. Лocus с длиной фрагмента 1155 п.н. наиболее часто встречается у исходной линии S (0,5), а с длинами 475 и 422 п.н. – у Sh28 (0,42) и L2 (0,27), соответственно. Таким образом, мы можем предположить, что селекция по признаку продолжительности жизни в линиях комнатной мухи приводит к дивергенции, выражающейся в изменении генотипической структуры селектируемых линий.

Работа поддержана грантом РФФИ № 11-04-97005-р\_поволжье\_a.

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕСОВЕРШЕННОГО ОСТЕОГЕНЕЗА

Д.Д. Надыршина<sup>\*1</sup>, Р.И. Хусаинова<sup>1</sup>, Э.К. Хуснутдинова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет (Уфа), Россия

<sup>2</sup>ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН (Уфа), Россия

\*e-mail: dinanad@mail.ru

Несовершенный остеогенез (НО) – клинически и генетически гетерогенное наследственное заболевание, характеризующееся повышенной ломкостью костей, встречающееся с частотой от 1:10000 до 1:30000 населения в различных странах мира. Существует 14 форм НО, тяжесть заболевания варьирует от легкой до внутриутробной летальной форм, наследуется как по аутосомно-доминантному, так и аутосомно-рецессивному типу. Рядом исследователей отмечается 5-7% sporadicческих случаев заболевания, обусловленных мутациями *de novo*. Частота доминантных форм НО составляет 1-15000-1-20000. Большинство доминантных форм НО обусловлены мутациями в генах  $\alpha 1$  и  $\alpha 2$  цепи коллагена I типа (*COL1A1* и *COL1A2*). Спектр мутаций генов *COL1A1* и *COL1A2* описан многими исследователями для западных популяций (американских и европейских популяций), есть ряд исследований из Азии. Показано, что для каждой популяции экспрессионный профиль и характер мутаций зависит от этнического происхождения. Целью исследования является поиск структурных изменений в генах *COL1A1* и *COL1A2* у больных несовершенным остеогенезом из Республики Башкортостан (РБ). Для определения изменений нуклеотидной последовательности были использованы методы: ПЦР-анализ и анализ конформационного полиморфизма однострессовой ДНК- SSCP-анализ (SSCP - Single Strand Conformation Polymorphism). Определение последовательности нуклеотидов в образцах ДНК, у которых были обнаружены различия в электрофоретической подвижности при SSCP-анализе, проводили с помощью автоматического секвенатора ABI PRISM 310 (Applied Biosystems). Анализ нуклеотидной последовательности 51 экзона гена *COL1A1* и 52 экзона гена *COL1A2* у 41 больного с НО из 33 семей (42,4% татарских, 33,3% русских, 12,1% башкирских, 3,1% марийских, 9,1% метисных) и 68 их родственников из РБ выявил 6 мутаций. В гене *COL1A1* были определены 4 нонсенс-мутации (p.Arg361X, p.Arg415X, p.Gln957X и p.Gly323X- ранее не описанная в литературе) и 2 мутации сдвига рамки считывания (c.579delT (p.Gly194ValfsX71), c.2444delG (p.Gly815AlafsX293) у больных НО. Гено-фенотипический анализ показал, что мутации c.967G>T (p.Gly323X), c.1081C>T (p.Arg361X), c.2869C>T (p.Gln957X) и c.579delT (p.Gly194ValfsX71) гена *COL1A1* приводят к легкой форме НО 1 типа с аутосомно-доминантным типом наследования, мутация c.1243C>T (p.Arg415X) – к sporadicческому случаю НО 3 типа тяжелой формы, мутация c.2444delG (p.Gly815AlafsX293), возникшая *de novo*, приводила к легкому фенотипу заболевания с 1 типом НО. В гене *COL1A2* мутации не обнаружены. Таким образом, у больных НО из РБ в гене *COL1A1* выявлено 6 мутаций. Все мутации обнаружены в гетерозиготном состоянии, являются уникальными для каждой семьи (за исключением мутации c.579delT, выявленной в двух неродственных семьях) и приводят к развитию легкой формы НО 1 типа (кроме мутации c.1243C>T).

## ТРАНСПОЗОН *Hermes* В ГЕНОМЕ ЛАБОРАТОРНЫХ ЛИНИЙ КОМНАТНОЙ МУХИ

***Ю.М. Никоноров, А.В. Чемерис, Г.В. Беньковская***

*ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН (Уфа), Россия*

*\*e-mail: bengal2@yandex.ru*

Лабораторные линии животных с коротким жизненным циклом и большим потенциалом размножения, к которым относится и комнатная муха *Musca domestica*, являются наиболее предпочтительными объектами для моделирования процессов микроэволюции. Совместное действие отбора и дрейфа в популяциях с ограниченной численностью позволяет за небольшое число поколений добиться значительных отклонений от средней нормы реакции фенотипа и закрепить соответствующие изменения в генотипе отбираемых линий. Мобильные генетические элементы, присутствующие в геноме эукариот, могут оказать существенное влияние на результативность отбора по таким полигенным признакам, как приспособленность и продолжительность жизни, индуцируя, с одной стороны, вредные геномные перестройки, а с другой – создавая материал для отбора за счет повышения полиморфизма. Транспозон *Hermes*, присутствующий в геноме комнатной мухи, относится к hAT семейству ДНК-содержащих транспозонов эукариот, и способен к внутригеномным перемещениям с использованием механизма “cut and paste”. ДНК транспозона *Hermes* содержит единственную рамку считывания, кодирующую транспозазу, родственную ретровирусным интегразам. Особи из природных популяций комнатной мухи содержат в своих геномах 20-30 копий ДНК транспозона. Низкий уровень транспозиционной активности определяется наличием эндогенной системы репрессии (Atkinson et al., 1993; Warren et al., 1994; Brochta et al., 1996). Наличие изменений в копийности ДНК транспозона в процессе отбора, провоцируемых гомозиготизацией и другими сопутствующими явлениями, можно использовать как один критериев стабильности геномов. Мы провели определение копийности ДНК транспозона *Hermes* в линиях Sh28 (с сокращенным жизненным периодом) и L2 (с увеличенной средней продолжительностью жизни), производных от исходной линии S (Соорег) методом количественной полимеразной цепной реакции (Q-PCR). Достоверных различий между самцами и самками внутри линий мы не обнаружили. Между линиями L2 и S различия достоверны ( $p < 0.05$ ). Максимальные различия выявлены между линиями Sh28 и S: для самок и самцов исходной линии S копийность ДНК транспозона составила 16.94 и 16.0 копий, для линии L2 соответственно 23.4 и 22.2, а для линии Sh28 – 27.8 и 27.6. Число копий ДНК транспозона в геномах клеток соматических тканей может существенно изменяться на протяжении онтогенеза. Общей для всех линий закономерностью, обнаруженной нами, является снижение числа копий ДНК *Hermes* на стадии пупария и постепенное увеличение в течение имагинальной жизни. Мы предполагаем, что распространение ДНК транспозона *Hermes* в геноме комнатной мухи, сопровождающееся увеличением его копийности, может осуществляться с использованием механизма транспозиции, который не нуждается в существовании промежуточной эписомной формы. Активность транспозона *Hermes*, проявляющаяся в изменениях копийности его ДНК, может быть одной из причин высокой изменчивости показателей продолжительности жизни у комнатной мухи *M. domestica*.

## ИССЛЕДОВАНИЕ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ *MYH7*, *MYBPC* У ПАЦИЕНТОВ С ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ И ДИЛАТАЦИОННОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

С.С. Ниязова<sup>\*1</sup>, *Е.П. Михаленко*<sup>1</sup>, *Н.Н. Чакова*<sup>1</sup>, *Э.В. Крупнова*<sup>1</sup>, *Н.В. Чеботарева*<sup>1</sup>,  
*С.М. Комиссарова*<sup>2</sup>, *Т.Г. Вайханская*<sup>2</sup>

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

*2* РНПЦ «Кардиология» (Минск), Беларусь

\*e-mail: [kruglenko\\_sveta@tut.by](mailto:kruglenko_sveta@tut.by)

Первичные кардиомиопатии (КМП) – обширный класс наследственных заболеваний, характеризующийся структурными изменениями миокарда. Среди всех видов КМП наиболее часто встречаются гипертрофическая КМП (ГКМП) и дилатационная КМП (ДКМП). В настоящее время известно, что возникновение как ГКМП, так и ДКМП связано с мутациями генов саркомерных белков, приводящим к нарушениям структуры и функции саркомера. К наиболее частым причинам развития ГКМП в странах Западной Европы и США (до 80% всех дефектов) относят мутации в генах *MYH7* и *MYBPC*, кодирующих тяжелые цепи  $\beta$ -миозина и миозин-связывающий белок *C*, соответственно. Известно, что мутации в этих же генах могут обуславливать развитие и ДКМП, хотя значительно реже. Причинами развития дилатационной кардиомиопатии могут являться также дефекты белков цитоскелета, которые вследствие генетически обусловленного нарушения не способны обеспечивать структурную и функциональную целостность мышечной клетки, что приводит к развитию дилатации. Известно, что КМП имеют популяционную специфику распределения генетических аномалий, поэтому необходимо их изучение в каждой отдельной популяции. Целью нашей работы стал поиск мутаций гена *MYH7* и *MYBPC* у пациентов с ГКМП и ДКМП в белорусской популяции. В исследование были включены 97 пациентов с ГКМП и 29 больных с ДКМП, проходивших лечение в РНПЦ «Кардиология». Поиск мутаций проводился в 23 экзоне гена *MYH7* и в 24 экзоне гена *MYBPC* с использованием метода прямого автоматического секвенирования ДНК. Начат анализ 17 экзона гена *MYBPC*, данный участок секвенирован у 8 пациентов с ГКМП. При определении нуклеотидной последовательности изучаемого экзона гена *MYH7* были выявлены делеция Glu930del у пациентов с ГКМП из одной семьи и мутация Glu924Lys у больных ГКМП из двух семей. У носителей мутации Glu924Lys наблюдались тяжелые клинические проявления ГКМП, прогрессирование течения заболевания с необходимостью проведения хирургической коррекции выраженных гемодинамических и морфологических нарушений. Семейный анамнез этих пациентов с мутацией Glu924Lys был отягощен случаями внезапной смерти родственников с ГКМП. У больных, имеющих делецию Glu930del, течение ГКМП было более легким, гипертрофия миокарда была менее выражена. Мутаций в 24 экзоне гена *MYBPC* у пациентов с ГКМП выявлено не было. При анализе нуклеотидной последовательности 17 экзона гена *MYBPC* у 1 из 8 обследованных пациентов с ГКМП была выявлена мутация Arg502Gln. В семейном анамнезе пациента с данной мутацией наблюдался случай внезапной смерти отца. У пациентов с ДКМП мутаций в исследуемых экзонах генов *MYH7* и *MYBPC* не обнаружено. Исследование продолжается, далее планируется провести поиск мутаций в других экзонах генов *MYBPC* и *MYH7*. Таким образом, на данный момент полученные результаты свидетельствуют о специфичности найденных мутаций в 23 экзоне гена *MYH7*, которые, вероятно, являются значимыми в развитии именно гипертрофического типа КМП.

## ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ РЯДА ГЕНОВ ЦИТОКИНОВ С ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

А.Х. Нурғалиева<sup>\*1,2</sup>, Э.Х. Шаймарданова<sup>1</sup>, Л.В. Габбасов<sup>3</sup>, О.А. Курамшина<sup>3</sup>,  
А.Я. Крюкова<sup>3</sup>, И.М. Хидиятова<sup>2</sup>, Э.К. Хуснутдинова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет (Уфа), Россия

<sup>2</sup> ФГБУН Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН (Уфа), Россия

<sup>3</sup> ФГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет (Уфа), Россия

\*e-mail: AlfyaKh83@gmail.com

Язвенная болезнь (ЯБ) — хроническое, циклически протекающее заболевание с разнообразной клинической картиной и изъязвлением слизистой оболочки желудка и/или двенадцатиперстной кишки (ДПК) в периоды обострения. Во всем мире этой патологией страдают около 25% взрослого населения. В качестве причин возникновения и прогрессирования ЯБ принято рассматривать три основных фактора: генетическую предрасположенность, нарушение равновесия между действующими на слизистую оболочку желудка и ДПК факторами агрессии и защиты, наличие инфекции *Helicobacter pylori*. Важную роль в патогенезе многих заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) играют цитокины, участвуя в активации воспаления на слизистой оболочке желудка и ДПК и усилении секреции гастрина. В тоже время провоспалительные цитокины могут ингибировать образование язвенного дефекта путем стимулирования секреции простагландинов и соматостатинов, тем самым понижая кислотность желудочного сока. Целью данной работы явился анализ ассоциации с риском развития ЯБ пяти полиморфных вариантов генов цитокинов: интерлейкина-1В *IL1B* (3953C>T; rs1143634), рецепторного антагониста интерлейкина-1 *IL1-RN* (*VNTR* полиморфизм; rs71941886), интерлейкина-8 *IL8* (-251T>A; rs4073), интерлейкина-10 *IL10* (-627C>A; rs1800872) и фактора некроза опухолей- $\alpha$  *TNFA* (-308G>A; rs1800629). Материалом для исследования послужили образцы ДНК 264 пациентов с язвенной болезнью желудка (ЯБЖ) и двенадцатиперстной кишки (ЯБДПК) и 282 здоровых индивидов без признаков патологии ЖКТ. ДНК была выделена из лейкоцитов периферической крови методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование проводилось с помощью метода ПЦР-ПДФ. Проведенный анализ пяти полиморфных локусов выявил в объединенной выборке больных статистически значимую ассоциацию генотипа *IL1B*\*3953C/C полиморфного варианта 3953C>T гена *IL1B* с риском развития ЯБ ( $OR=1,7$ ;  $P=0,003$ ;  $\chi^2=1,7$ ). Кроме этого установлено, что в контрольной группе достоверно чаще, чем у больных встречался гетерозиготный генотип *of IL1B*\*3953C/T описанного выше локуса ( $OR=0,6$ ;  $P=0,02$ ;  $\chi^2=5,7$ ). Также было показано, что среди индивидов татарской этнической принадлежности в контрольной группе частота гомозиготного генотипа *IL10*\*-627A/A однонуклеотидной замены -627C>A гена *IL10* была выше, чем у пациентов с ЯБ ( $OR=0,3$ ;  $P=0,05$ ;  $\chi^2=3,8$ ). При анализе полиморфных локусов в генах *IL1-RN* (rs71941886), интерлейкина-8 *IL8* (rs4073), и *TNFA* (rs1800629) не обнаружено статистически значимых различий в распределении частот аллелей и генотипов между группами больных ЯБ и здоровых доноров. Таким образом, проведенное исследование показало ассоциацию полиморфного локуса 3953C>T (rs1143634) гена *IL1B* с язвенной болезнью в Республике Башкортостан.

# ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ СИСТЕМ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ ДИНАМИКУ И РЕОРГАНИЗАЦИЮ АКТИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА В ХОДЕ ООГЕНЕЗА *Drosophila melanogaster*

**А.А. Огиенко\*, Е.С. Омелина, Е.В. Федорова, Э.М. Баричева**

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

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

Многофункциональный белок GAGA, кодируемый геном *Trithorax-like (Trl)* *Drosophila melanogaster*, участвует в регуляции экспрессии огромного количества генов. Анализ недавно полученных гипоморфных мутаций гена *Trl* позволил выявить новые, ранее не описанные дефекты в ходе оогенеза дрозофилы. Наиболее интересный дефект – это нарушение формирования цитоплазматических актиновых филаментов на поздних стадиях развития яйцевой камеры и, как следствие, формирование «*dumpleless*» фенотипа [1,2]. Поскольку продукт гена *Trl* напрямую не участвует в формировании актиновых филаментов, предполагается, что нарушения являются следствием изменения экспрессии генов-мишеней белка GAGA, задействованных в формировании актинового цитоскелета. Для выявления предполагаемых генов-мишеней в работе применяется комплексный подход. Во-первых, проводился компьютерный анализ с использованием программы, предсказывающей сайты связывания для транскрипционных факторов *SITECON* [3]. С помощью этой программы, мы нашли предположительные гены-мишени белка GAGA, участвующие в формировании актиновых филаментов. В поле нашего интереса попали гены *Act5C*, *chickadee (chic)*, *capping protein beta (cpb)*, *bifocal (bif)*, *jaguar (jar)* и некоторые другие. Во-вторых, использование базы данных modENCODE показало, что с последовательностью всех генов связывается белок GAGA. В-третьих, проводится проверка взаимодействия между геном *Trl* и выявленными генами с помощью *real-time PCR* (измеряется экспрессия выявленных генов на фоне сильных мутаций по гену *Trl*), а также генетическими методами. Ценность данной работы заключается в том, что она проводится *in vivo*, но не на клеточных линиях, а в живом организме мухи, что делает полученные результаты более ценными и значимыми.

Работа поддержана грантом РФФИ №12-04-31804.

[1] Ogienko A.A., Karagodin D.A., Fedorova S.A. et al. Effect of hypomorphic mutation in *Trithorax-like* gene on *Drosophila melanogaster* oogenesis. *Ontogenesis* 2006 May-Jun;37(3):211-20.

[2] Ogienko A.A., Karagodin D.A., Pavlova N.V. et al. Molecular and genetic description of a new hypomorphic mutation of *Trithorax-like* gene and analysis of its effect on *Drosophila melanogaster* oogenesis *Ontogenesis* 2008 Mar-Apr;39(2):134-42.

[3] Omelina E.S., Baricheva E.M., Oshchepkov D.Yu. et al. Analysis and recognition of the GAGA transcription factor binding sites in *Drosophila* genes *COMPUT BIOL CHEM* V. 35, № 6, P. 363-370.

## **РОЛЬ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В ИЗМЕНЧИВОСТИ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ КАРТОФЕЛЯ В ГОРНОМ АЛТАЕ**

***А.А. Оплеухин\****, ***Т.А. Стрельцова***

*ФГБОУ ВПО Горно-Алтайский государственный университет (Горно-Алтайск), Россия*

*\*e-mail: plybym@rambler.ru*

В работе дан анализ данных экологического сортоиспытания по изменчивости количественных признаков картофеля в разных условиях высотной поясности Горного Алтая, вскрыта сущность экологических взаимодействий типа генотип-среда и комплексно использовано несколько методов обработки полученных результатов, способных выявить степень влияния экологических факторов. Это важно для составления списка сортов, наиболее подходящих для выращивания в республике Алтай. При проведении дисперсионным анализа для всех вариантов эксперимента, так и при обработке лишь двух вариантов фактора «пункт испытания (А)» по Майме и Усть-Коксе, были получены сходные данные доли дисперсии. Однако при сравнении кардинально меняется распределение доли дисперсии по факторам: резко падает доля фактора А (пункт испытания), так же резко возрастает доля влияния фактора В (годы) и существенно (до 38%) - их взаимодействия (АхВ). Сдвиг доли дисперсии вызван средними по факторам, а фактор А и В взаимонезависимы, т.е. вследствие удаленности пунктов в один и тот же год может наблюдаться разная продуктивность, обусловленная не столько экологическими условиями самих пунктов, сколько флуктуациями погодных условий. Это можно представить, как если бы фактор «пункты (А)» был генеральной совокупностью, а конкретные годы (В) - выборками из нее. Такой вариант и рассматривается, но, однако, малое число выборок (годы) делает практически бессмысленным параметр доли вариации, так как он становится крайне подвержен сдвигам за счет сильного независимого (от фактора А) колебания фактора В. При этом устраняется условие того, что фактор должен иметь одно значение для всех групп, так как в один год в разных пунктах этот фактор будет иметь неоднозначное влияние. Вследствие этого более рационально предварительно проводить анализ дисперсии факторов В (годы) и С (генотипы) в пределах одного значения фактора А, т.е. рассматривать вначале по двум факторам (В и С) в пределах каждого значения фактора А и только затем проводить трехфакторный анализ. Это даст более четкий анализ за счет удаления возможной компенсации усиления факторов А и В. Рассмотрим применение метода главных компонент на данных 1999-2001 годов, полученных по 14 сортам картофеля в трех пунктах Горного Алтая, разных по высотной поясности - в Майме (350 м над уровнем моря), Чемале (630 м) и Усть-Кане (1100 м), по пяти признакам: продуктивность, количество клубней с куста, масса клубня, высота растения, количество стеблей на куст. По координатной оси первой главной компоненты (ось абсцисс) распределение наблюдается в основном по годам вегетации: наименьшие значения имеет 2000 г., около нуля – 1999 г., и наибольшие, в целом, - 2001 г., при этом с довольно сильными различиями по пунктам выращивания. Причина смещения в пространстве главных компонент указанных вариантов заключается в том что, продуктивность и высота стеблей были наименьшими в 2000 г. (480 г/куст, 59см), особенно в Усть-Кане (399 г/куст; 49 см), и наибольшими в 2001 (713 г/куст), разница по высоте стеблей с 2000 г не столь существенна. В 1999 г. в Майме наблюдалось большое число клубней с 1 куста (16) и низкая крупность (39 г), в то время как в Усть-Кане - малое число клубней с куста (5,6), но высокая крупность (103г), что, однако, не отразилось на продуктивности. В результате обратной корреляции указанные величины скомпенсировали продуктивность.

## КОМПЬЮТЕРНЫЙ АНАЛИЗ ДАННЫХ СЕКВЕНИРОВАНИЯ И ХРОМАТИН-ИММУНОПРЕЦИПИТАЦИИ ChIP-seq

**Ю.Л. Орлов\***

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

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

Стремительное развитие технологий секвенирования ДНК придало качественно новый скачок биологическим исследованиям (Orlov et al., 2012; Орлов и др., 2012). Взрывообразный рост геномных данных, особенно в связи с усовершенствованием технологий секвенирования, требует разработки новых специализированных компьютерных программ обработки, упорядочения, анализа огромного массива нуклеотидных последовательностей. Это связано и с медицинскими задачами, относящимися к анализу генома человека, и с биотехнологическими проблемами при анализе геномов других организмов, имеющих научное значение как модельные объекты. Среди методов, позволяющих изучать связывание транскрипционных факторов (ТФ) с ДНК, особое место занимает метод иммунопреципитации хроматина, сопряженный с последующим секвенированием ChIP-seq (Chromatin Immunoprecipitation – sequencing). Метод состоит в обработке клеток формальдегидом, вызывающей образование ковалентных соединений между ДНК и контактирующими участками белков. Затем хроматин дробится (ультразвуком) и с помощью специфических антител выделяются районы ДНК, с которыми связаны исследуемые белки. Секвенирование выделенных фрагментов выполняется на приборах массового параллельного секвенирования ДНК (Roche 454, Illumina, SOLiD, Ion Torrent). Первичные данные поступают в формате bed-файлов, либо в FASTA формате (тысячи и миллионы последовательностей) и требуют препроцессинга и картирования на референсный геном. Такие данные, помимо просто набора последовательностей, представляют собой профиль активности (например, связывание ДНК с белком, или со специфичными гистонами), или районы транскрипции (при секвенировании РНК). Задача состоит в упорядочении и поиске функциональной информации, что требует как технических решений (хранение, поиск, быстрый доступ), так и новых теоретических подходов, связанных с математическим исследованием сигнала, анализом профиля и статистическими оценками. Разработан ряд компьютерных программ анализа данных ChIP-seq применявшихся для сайтов связывания факторов плюрипотентности в эмбриональных стволовых клетках мыши и человека, в исследованиях модификаций хроматина (метилование и ацетилование гистона H3 в различных позициях) (Joseph, Orlov et al., 2010; Lee et al., 2011; Orlov et al., 2012; Орлов и др., 2012). При этом, объемы получаемых данных оказываются значительными, и для их качественной и быстрой обработки необходимо использовать распределенные вычислительные системы и конвейерную обработку данных. Новый тип обработки данных связан с технологиями определения хромосомных контактов через секвенирование – по методу ChIA-PET (Li et al., 2012).

1. Joseph R., Orlov Y.L., Huss M.\*, et al. (2010) Integrative model of genomic factors for determining binding site selection by estrogen receptor  $\alpha$ . // *Mol Syst Biol.* 6:456.
2. Lee K.L., Lim S.K., Orlov Y.L., et al. (2011) Graded Nodal/Activin signaling titrates conversion of quantitative phospho-Smad2 levels into qualitative embryonic stem cell fate decisions. // *PLoS Genet.* 7(6):e1002130.
3. Li G., Ruan X., Auerbach R.K., et al. (2012) Extensive promoter-centered chromatin interactions provide a topological basis for transcription regulation. // *Cell.* 148(1-2):84-98.
4. Orlov Y., Xu H., Afonnikov D., et al. (2012) Computer and Statistical Analysis of Transcription Factor Binding and Chromatin Modifications by ChIP-seq data in Embryonic Stem Cell // *J Integr Bioinform.* 9(2):211.
5. Орлов Ю.Л., Брагин А.О., Медведева И.В., и др. (2012) ICGenomics: программный комплекс анализа символьных последовательностей геномики // *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 16(4/1): 732-741.



# КАК КЛАСТЕРЫ МНОЖЕСТВЕННЫХ NFAT5 САЙТОВ МОГУТ ВЛИЯТЬ НА УРОВЕНЬ NFAT5-ИНДУЦИРУЕМОЙ ЭКСПРЕССИИ NFAT5-ЗАВИСИМЫХ ГЕНОВ: ПРИБЛИЖЕННОЕ РЕШЕНИЕ НЕКОРРЕКТНО ПОСТАВЛЕННОЙ ОБРАТНОЙ ЗАДАЧИ

П.П. Пономаренко\*<sup>1</sup>, М.П. Пономаренко<sup>1</sup>, Н.А. Колчанов<sup>1,2,3</sup>, Б. Эйзенхабер<sup>4</sup>,  
Ф. Эйзенхабер<sup>4,5,6</sup>

<sup>1</sup>Институт цитологии и генетики СО РАН (Россия)

<sup>2</sup>Новосибирский государственный университет (Россия)

<sup>3</sup>Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт” (Россия)

<sup>4</sup>Институт Биоинформатики А\*STAR (Сингапур)

<sup>5</sup>Биологический факультет Национального университета Сингапура (Сингапур)

<sup>6</sup>Школа компьютерной инженерии Технологического университета Nanyang (Сингапур)

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

Транскрипционный фактор NFAT5 (Nuclear Factor of Activated T-cells 5; синонимы: TonEBP и OREBP от Tonicity Enhancer Binding Protein и Osmotic Response Element-Binding Protein, соответственно) является мастер-геном ответа на осмотический и гипертонический стрессы у животных [1]. Его участие в регуляции экспрессии генов обусловлено наличием в их промоторах специфических сайтов связывания этого регуляторного белка, которые характеризуются консенсусом “TGGAANNYNY” достоверно частых нуклеотидов в позициях этого сайта (здесь: Y = “Т или С”, N = ”любой нуклеотид”) и который часто образуют кластеры из нескольких сайтов. Кластеры множественных сайтов связывания одного и того же транскрипционного фактора являются характерной особенностью промоторов генов ответа на ауксин, глюкокортикоидные, стероидные, тиреоидные и многие другие гормоны, а также на тепловой, гипертонический, осмотический и многие другие стрессы. Хотя имеется большое разнообразие экспериментальных данных о влиянии одиночных регуляторных сайтов в промоторах на экспрессию генов, нет данных о молекулярных механизмах функционирования кластеров множественных таких сайтов. Ранее [1], мы предложили подход к оценке влияния каждой из всех  $2^N$  возможных комбинаций из сайтов, которые образуют кластер из N таких сайтов, включая случай отсутствие их вклада в экспрессию гена, например, в отсутствие в клетке транскрипционного фактора, связывающего эти сайты. Для оценки в самом простом линейно-аддитивном приближении необходимо  $2^{2N}$  конструкторов на основе такого кластера с экспериментально измеренными для них уровнями экспрессии (т.е. для N = 3, 4, 5, ... необходимое количество таких конструкторов будет равно 64, 256, 1024, ...). Поэтому нет экспериментальных данных такого объема, то такой подход общепринято называть “некорректно поставленной обратной задачей”. Но два предельных случая – аддитивный (вклад каждого из всех N сайтов в уровень экспрессии гена не зависит от вкладов остальных сайтов) и мультипликативный (все сайты вносят единственный кооперативный вклад в уровень экспрессии гена), - можно исследовать на экспериментальных данных традиционного объема. В предыдущей статье [1] мы обнаружили на данных трех независимых опытов с генами разных растений, что множественные сайты ответа на ауксин вносят единственный кооперативный вклад в уровень экспрессии всего ауксин-зависимого гена в целом и обеспечивают при этом репрессию транскрипции этого гена в условиях отсутствия ауксина в клетке. Этот результат согласуется с данными независимых экспериментов. В настоящей работе мы обнаружили аддитивный вклад каждого NFAT5-сайтов из их кластеров в промоторах генов HSP70-2 человека и мыши, альдолазоредуктазы человека и крысы, SMIT (sodium/myo-inositol cotransporter) человека и аквапорина-2 мыши в уровни экспрессии этих генов. При этом внутри исследованных кластеров были обнаружены варианты NFAT5-сайтов, которые вносят противоположные вклады: одни – активируют ген, другие – репрессируют этот же ген. Это может быть важным для NFAT5-зависимой экспрессии генов.

[1] Mironova V.V., Omelyanchuk N.A., Savina M.S., et l. (2013) How multiple auxin responsive elements interact in plant promoters: evidences from a reverse problem solution. J. Bioinform. Comput. Biol., V. 11, P. 1340011.

## АНАЛИЗ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ *BRCA1*, *BRCA2*, *CHEK2* и *PALB2* У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ ИЗ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

Д.С. Прокофьева\*<sup>1,2</sup>, М.А. Бермишева<sup>2</sup>, Э. К. Хуснутдинова<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет (Уфа), Россия

<sup>2</sup>ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН (Уфа), Россия

\*e-mail: [darenca1@yandex.ru](mailto:darenca1@yandex.ru)

В России ежегодно регистрируют более 12000 случаев рака яичников (РЯ). Высокий уровень заболеваемости наблюдается также в Республике Башкортостан (РБ). Ежегодно выявляют более 700 случаев РЯ, при этом, наблюдается высокий уровень смертности от данного заболевания, около 400 человек в год. Большая часть семейного РЯ и около 10-15% всех случаев заболевания обусловлены мутациями в генах *BRCA1* и *BRCA2*. Кроме этих высоко пенетрантных генов в развитии РЯ могут принимать участие и другие гены со средней и низкой пенетрантностью, например, ген *CHEK2*, продукт которого, также как продукты генов *BRCA1* и *BRCA2*, является компонентом общего сигнального пути ответа клетки на ионизирующее излучение. Еще один важный компонент данного сигнального пути – протеин *PALB2*, который является частью белкового комплекса *BRCA* (*BRCA1*, *PALB2* и *BRCA2*), где он выступает в качестве партнера *BRCA2* и определяет его локализацию в ядре. Также способствует взаимодействию белков *BRCA1* и *BRCA2*. В нашей работе проведен скрининг мутаций *c.5266dupC*, *c.4034delA*, *c.181T>G* в гене *BRCA1* и *c.5946delT* в гене *BRCA2* у 243 больных РЯ. Выявлена мутация *c.5266dupC* в гене *BRCA1* с высокой частотой 5,3%. Мутация *c.181T>G* в гене *BRCA1* выявлена с частотой 1,2% (3/243). Делеция *c.4034delA* в гене *BRCA1* не обнаружена. У больных РЯ и в контроле ( $n=368$ ) мутация *c.5946delT* в гене *BRCA2* не выявлена. Также, проведен поиск мутаций *CHEK2dele 9,10* (5kb), *c.444+1G>A*, *c.1100delC* и *c.470T>C* в гене *CHEK2* у больных РЯ и в контрольной группе. Выявлено 2 (1%) носительницы мутации *CHEK2dele9,10* (5kb). В контрольной выборке обнаружены 2 (0,5%) женщины с мутацией *IVS2+1G>A* в гене *CHEK2*. Мутация *1100delC* ни у больных РЯ, ни в контрольной выборке не выявлена. В результате секвенирования 2 и 3 экзонов гена *CHEK2* выявлено 2 (1%) женщины с мутацией *p.R145W*. Кроме того, нами проведен анализ кодирующего региона гена *PALB2* в группе больных РЯ и дана оценка ассоциации полиморфных вариантов *p.Q559R*, *p.E672Q*, *p.G998E* с РЯ. В результате проведенного исследования обнаружена мутация *c.172\_175delTTGT* (0,4%) у женщины русского этнического происхождения и полиморфные варианты *c.-47G>A*, *p.L9L*, *c.212-58A>C*, *p.L337S*, *p.V932M*, *p.T1100T* в гене *PALB2*. У женщины с данной мутацией диагностирована серозная карцинома с высокой степенью злокачественности и с поражением обоих яичников в возрасте 46 лет. Ранее у этой пациентки была диагностирована меланома кожи. Ассоциации полиморфных вариантов *p.Q559R*, *p.E672Q*, *p.G998E* с риском развития РЯ не установлено ( $p > 0.05$ ). Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о высокой частоте распространения мутации *c.5266dupC* в гене *BRCA1* и низких частотах встречаемости мутаций *c.181T>G* в гене *BRCA1*, *CHEK2dele9,10* (5kb), *p.R145W* в гене *CHEK2* и *c.172\_175delTTGT* в гене *PALB2* у больных РЯ из РБ.

## **ДОЛГАЯ ДОРОГА ОТ ПРИЗНАКА К ГЕНУ: ЛОКУС *GPC-V1* СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКА В ЗЕРНЕ ПШЕНИЦЫ**

**Т. А Пшеничникова\***

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

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

Содержание белка в зерне пшеницы, определяющее содержание клейковины, является агрономически важным признаком и конечной селекционной целью при создании сортов. Признак имеет количественное наследование, а его проявление существенно модифицируется влиянием условий выращивания. Поэтому идентификация генов, контролирующих содержание белка в зерне, и вовлечение их в селекцию является большим достижением, приносящим большие прибыли производителям зерна. В докладе будет представлена 35-летняя история открытия, исследования и использования в селекции единственного известного на сегодня гена содержания белка в зерне *Gpc-1*, локализованного в хромосоме 6В пшеницы и интрогрессированного из дикого тетраплоида *Triticum dicoccoides*. Для него определен не только фенотипический эффект и местоположение на хромосоме, но и физиологическая роль, плеiotропное влияние на другие признаки в различных генотипических средах твердой и мягкой пшениц. Ген секвенирован и установлена его молекулярная природа. Наконец, ген активно использован в селекции в разных странах для получения новых высокобелковых сортов и уже изучена его ценность при выращивании этих сортов в различных климатических условиях.

# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНТРОГРЕССИРОВАННОГО ОТ *Aegilops speltoides* ЛОКУСА *Ha-Sp* ДЛЯ СОЗДАНИЯ СУПЕРМЯГКОЗЁРНОГО ГЕНОТИПА МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

А.В. Симонов\*, Т.А. Пшеничникова

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

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

Мягкая пшеница является гексаплоидным видом, вобравшим в себя геномы А, В и D от трёх диплоидных предков. Соответственно, можно предполагать, что многие признаки и свойства контролируются серией гомеоаллельных генов. Например, установлены серии генов *Vrn-1* в пятой группе хромосом, определяющие тип развития. Но для многих других признаков таких серий генов может не быть. Например, в хромосоме 5D находится локус *Ha*, определяющий тип эндосперма зерновки. Данный локус содержит тесно сцепленные гены белков пуриноидинов *Pina-D1* и *Pinb-D1*, синтез которых приводит к формированию мягкого мучнистого эндосперма. Для этих генов найдены десятки аллелей, где синтез пуриноидинов так или иначе нарушается, что ведёт к образованию стекловидного твёрдого эндосперма. В хромосомах 5А и 5В мягкой пшеницы данных генов нет, их утрата произошла на тетраплоидном уровне, отчего твёрдая пшеница имеет высокую твердозёрность и стекловидность зерна.

Нашей задачей стало объединить в одном генотипе двух функциональных локусов *Ha* для изучения их возможного взаимодействия. В качестве донора гомеоаллельного локуса стала линия мягкой пшеницы 84/98<sup>w</sup> из коллекции «Арсенал» с интрогрессией от *Aegilops speltoides*. Она создана на основе твердозёрного сорта Родина, но характеризуется мягкозёрностью и полустекловидными зерновками. Ранее моносомным анализом было установлено, что в хромосоме 5А она несёт локус *Ha-Sp*, который эффективно снижает твердозёрность и стекловидность у сортов Саратовская 29 и Диамант 2.

В настоящей работе в одном генотипе были объединены локус *Ha* мягкозёрного сорта Chinese Spring и интрогрессированный от *Aegilops speltoides* локус *Ha-Sp* линии 84/98<sup>w</sup>. Изучался ряд гибридных семей с F<sub>3</sub> по F<sub>8</sub>, среди которых параллельно вёлся индивидуальный отбор на мучнистость и мягкозёрность, а также на стекловидность и твердозёрность. Зерно с растений проверялось по стекловидности и анализировалось на твердозёрность на приборе ПСХ-4. Стекловидность родительских форм составляет 50-70%, а диаметр частиц муки порядка 11-15 мкм. Среди семей гибридных растений выявлены формы со стекловидностью ниже 50% (до 0%) и диаметром частиц муки на уровне 10-14 мкм. Также получены растения со стекловидностью до 100% и диаметром частиц муки порядка 22-27 мкм. Последние не унаследовали функциональных аллелей локусов *Ha* и *Ha-Sp*.

Полученные образцы со сходным диаметром частиц муки имели большой разброс по стекловидности, в том числе получены формы с почти полностью мучнистым зерном, чего не наблюдалось у родительских форм. С другой стороны, формы со сходной стекловидностью также характеризуются некоторым разбросом по диаметру частиц муки. Это свидетельствует о сложном взаимодействии двух гомеоаллельных локусов *Ha* и *Ha-Sp*, влияющих на структуру эндосперма зерновки, а также о влиянии генетического фона.

## НОВЫЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ ФОРМ РАСТЕНИЙ

О.Б. Вайшля\*<sup>1</sup>, О.Г. Смирнова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО Национальный исследовательский Томский государственный университет (Томск), Россия

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

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

Одним из классических способов повышения продуктивности растений является гетерозис. Этот феномен очень сложен для изучения, так как разнообразные генетические механизмы вносят вклад в его формирование. Была поставлена задача - разработать подход для анализа большого массива физиолого-биохимических показателей, позволяющий создать систему критериев раннего прогнозирования гибридной силы. Объектом изучения являлись зерновой сорт гороха Торсдаг, мутант *chlorotica* и реципрочные гибриды F<sub>1</sub> между ними. Гибриды проявляют стабильный эффект гетерозиса по урожаю семян и высоте растений, превосходя лучшего из родителей. Низкопродуктивный мутант *chi* имеет дефицит хлорофилла на всех стадиях онтогенеза за счет нарушения синтеза одного из коровых белков реакционных центров фотосистемы I. На этом фоне все физиологические системы растения проходят отбор, в результате чего формируется компенсационный комплекс признаков. Проведено изучение 246 физиолого-биохимических и морфометрических показателей растений на разных стадиях развития. Поскольку анализ средних значений изученных показателей фотосинтеза, дыхания и роста не позволяет выявить полную картину их функциональных взаимосвязей, были применены методы сравнительного и факторного анализа. На стадии проростков для каждого генотипа была сформирована выборка по пять повторностей на каждый из 246 параметров, на основании чего была составлена суммарная выборка по всем пяти генотипам. Таким образом, для каждой переменной объем выборки составил 5x5, а общий объем суммарной выборки – 25x246. Для всех выборок были рассчитаны корреляционные матрицы, анализ которых показал их насыщенность статистически значимыми связями. Факторный анализ показал, что в каждой из шести выборок выявляются 4 системы показателей, связанных с определенным фактором с коэффициентом корреляции не менее 0.75. Под факторами понимаются непосредственно не измеряемые показатели, гипотетические внешние и внутренние причины, связанные с измеряемыми характеристиками. Сила связи признака с фактором выражается в виде факторной нагрузки (коэффициента корреляции). Построены корреляционные диаграммы средних значений параметров родительских форм и гибридов и факторных нагрузок. Анализ признаков, входящих в группы связанности показателей, позволяет предположить, что факторы 1, 2, 3 могут быть отнесены к продуктивности, гомеостазу и регуляции, соответственно. Фактор 4 пока не идентифицирован в силу небольшого числа признаков, имеющих высокий коэффициент корреляции с этим фактором. Показано, что для данной генетической модели гетерозисное преимущество гибридов обусловлено комплементарным взаимодействием не отдельных физиолого-биохимических показателей родительских форм, а целых систем. Гибрид наследует от исходной формы Торсдаг нормальную структуру фотосинтетического аппарата и особенности проявления признаков, попадающих в группу фактора 1 (продуктивность), а от мутанта – положительную сильную связь признаков группы фактора 2 (гомеостаз) и фактора 3 (регуляция). Таким образом, у гибридов происходит комплементация систем показателей высокого порядка, в результате чего обеспечивается высокая толерантность и адаптивность к стрессовым факторам, что приводит к высокой жизнеспособности и продуктивности гибридов. Возникает вопрос о природе факторов, тесно связанных с определенными группами признаков, влияющих на формирование продуктивности. Предложен принципиально новый подход оценки биологической продуктивности селекционного материала на ранних стадиях. Разработана статистическая модель оценки комбинационной способности, основанная на сравнении отдельных генотипов между собой не по отдельным показателям, а по факторным нагрузкам параметров, рассчитанных по корреляционным матрицам, составленным для резко контрастных по продуктивности генотипов для отдельных видов растений.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНФОРМАЦИОННОГО РЕСУРСА TGP ДЛЯ СОЗДАНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ С ЧУВСТВИТЕЛЬНЫМИ К СОЛЕВОМУ СТРЕССУ ПРОМОТОРАМИ

**О.Г. Смирнова\*, А.В. Кочетов**

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

\*e-mail: [planta@bionet.nsc.ru](mailto:planta@bionet.nsc.ru)

Солевой стресс является одним из видов абиотического стресса, который неблагоприятным образом сказывается на продуктивности сельскохозяйственных культур. Около 5% земельных угодий содержат повышенный уровень солей в почве. Засолению почв способствуют использование удобрений и орошение. Солевой стресс влияет на ионный и осмотический баланс клетки. Создание форм растений, устойчивых к высоким концентрациям солей, является важной генно-инженерной задачей. Промотор в значительной мере определяет паттерн экспрессии трансгена. Исследование промоторов также необходимо для изучения физиологических функций в ответ на стресс. Изучение профилей экспрессии 7000 генов Арабидопсиса показало, что после воздействия солевого стресса уровень 194 транскриптов возрос более чем в 5 раз. Несколько десятков промоторов генов растений были выделены и исследованы на предмет чувствительности к солевому стрессу. Информация об этих промоторах внесена в базу TGP ([http://www.mgs.bionet.nsc.ru/mgs/dbases/tgp\\_ru/home.html](http://www.mgs.bionet.nsc.ru/mgs/dbases/tgp_ru/home.html)). Среди них присутствуют промоторы генов транскрипционных факторов и структурных генов разных функциональных групп, которые активируются или репрессируются в ответ на солевой стресс. Среди высокочувствительных промоторов, активность которых после солевого стресса возрастает более чем в 8 раз, следует отметить промоторы AtRD29A (desiccation-responsive protein 29A), OsNCED3 (9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase 3), GmCAM4 (calmodulin isoform-4), OsWSI18 (water stress inducible protein 18), CdDREBa (DRE-binding transcription factor), OsRAB16A, MbDREB1 (DRE-binding protein 1). Причем активность промотора может зависеть от вида трансгенного растения. Промотор McPpc1 (phosphoenolpyruvate carboxylase) имел повышенную активность в трансгенных растениях *Mesembryanthemum crystallinum* и пониженную активность в трансгенном табаке. Пониженную активность при солевом стрессе имеют промоторы ZoVDE (violaxanthin de-epoxidase), AtHKT1 (sodium transporter), LeREO (2-oxoglutarate and Fe(II)-dependent dioxygenase), CrCYP1 (cytosolic cyclophilin). Были сконструированы синтетические промоторы с высоким, до 20 раз, уровнем индукции на солевой стресс. Промотор 4xABRE содержит 4 тандемные копии ABRE из промотора гена *TaEm*, сшитые с базальным CaMV35S промотором. Промотор 2xABRC состоит из двух тандемных повторов *TaEm* ABRE с двумя копиями соединительных элементов HvA22 CE1, сшитых с базальным CaMV35S промотором. Фрагмент промотора CdDREBa (от -430 до -351), также сшитый с базальным CaMV35S промотором, имел более высокий уровень индукции, чем природный CdDREBa промотор. Эти промоторы имеют высокий потенциал использования для управления экспрессией трансгенов в случае солевого стресса. Некоторые из солечувствительных промоторов были с успехом применены для управления экспрессией целевых генов. Ген IPT (isopentyl transferase) из *Agrobacterium tumefaciens* под управлением AtRD29A промотора повышал солеустойчивость трансгенного табака без негативного влияния на рост и развитие трансгенных растений. Использование индуцированных промоторов, таких как AtRD29A, может минимизировать негативный эффект конститутивной экспрессии трансгена и улучшить солеустойчивость растений. Расширенная система поиска базы TGP позволяет быстро находить нужный промотор по различным критериям, например, по уровню индукции, ткане- и стадие-специфичности действия промотора, и получать нуклеотидную последовательность этого промотора. База TGP является удобным ресурсом для подбора солечувствительных промоторов для трансгенеза. Коллекция промоторов, представленных в базе TGP, способствует развитию представлений о регуляции экспрессии генов при стрессе и обеспечивает новыми, обладающими разными характеристиками солечувствительными промоторами для создания трансгенных растений.

## **ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ ИСПЫТАНИЕ СОРТОВ СОБСТВЕННОЙ СЕЛЕКЦИИ В УСЛОВИЯХ РАЗЛИЧНОЙ ВЫСОТНОЙ ПОЯСНОСТИ ГОРНОГО АЛТАЯ**

**Т.А. Стрельцова\***

*ФГБОУ ВПО Горно-Алтайский государственный университет (Горно-Алтайск), Россия*

*\*e-mail: tomagorny@yandex.ru*

В Республике Алтай экологическое сортоиспытания позволяет подобрать наиболее адаптированные и высокопродуктивные сорта для местных условий возделывания и найти экологически чистую нишу от болезней, где можно получать здоровый, незараженный, семенной материал. Особый интерес при этом представляют ранние сорта собственной селекции ГАГУ. Генетический мониторинг этих сортов картофеля осуществлен в 2010-12 гг. на трех горных полигонах - в Майме (предгорье), Усть-Коксе (среднегорье) и Улагане (высокогорье). Испытание сортов проводилось согласно "Методическим указаниям по экологическому сортоиспытанию картофеля" и др., сделан анализ экспериментальных данных по элементам развития и формирования продуктивности и устойчивости генотипов к неблагоприятным факторам климата и болезням. Полученные данные подвергались дисперсионному многофакторному анализу на IBM с помощью специальных программ SNEDECOR. Выявлен высокий генетический потенциал продуктивности картофеля. В Майме (низкогорье) продуктивность этих сортов варьировала в 2011-12 годах от 473 (Сувенир Горного Алтая) до 857 г/куст (Белуха), в Усть-Коксе от 353 (Сувенир Горного Алтая) до 573 г/куст (Горец), в Улагане - от 830 (Белуха) до 1093 (Горец) г/куст. В 2012 году в высокогорье высокой продуктивностью отличались ранние сорта Горец (1784 г/куст) и Белуха (1570г/куст), их урожайность в Улагане (высокогорье) у сорта Горец составила 71.3 т/га, у Белухи - 62.8 т/га, а низкие - в Майме (экстремальная засуха 2012 г). Путем многофакторного дисперсионного анализа определена сила влияния антропогенных и природных факторов на формирование элементов структуры продуктивности и адаптивности генотипов к разным экологическим нишам. Испытуемые сорта способны адаптироваться в суровых условиях горных территорий и даже при очень неблагоприятных метеоусловиях в высокогорье были самыми высокопродуктивными. На изменчивость продуктивности, как показал дисперсионный многофакторный анализ, сильное влияние оказали экологические условия пункта - 63%, доля вариации генотипа была незначительной - 13%. В Улагане (высокогорье) сформировалось наибольшее число клубней с 1 куста, среднее по сорту составило 17.7 (Горец). Меньшее число клубней с куста (12) наблюдалась в Усть-Коксе (среднегорье). Крупность клубня варьировала в зависимости от пункта испытания, но самыми крупными они были в высокогорье. Поражаемость клубней болезнями была очень незначительной, в основном обусловленной механическими повреждениями и инфицированием во время длительной транспортировки.

## ПРОТИВОРЕЧИЕ АДАПТАЦИИ И НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ АДАПТИВНОСТЬ

**В.В. Сулов\***

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

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

По данным палео- и неонтологии инвазия таксона в новую эконишу/биотоп осуществляется за краткое время, малыми популяциями (МП), параллельно в разных субтаксонах и/или частях ареала. Нередки параллелизм адаптаций, успех инвазии таксона бедного, сравнительно с богатым преадаптациями. Например, хотя эвпреадаптации к воздушному дыханию (легкие, лабиринт и т.п.) распространены у рыб, их носители чаще покидают (если вообще покидают) воду в комфортных условиях неволи, нежели в естественных условиях, где предпочитают осваивать не амфибийные, а заморные биотопы или анабиоз в засуху. Систематически и массово активны вне воды формы типа *Periophthalmus* – с инадаптивным дыханием или задерживающие дыхание (*Leuresthes*, *Gasteropelecidae* и т.д.). Дилемма Холдейна (ДХ), равноприменяемая к генетической и негенетической изменчивостям, ограничивает темпы адаптивной эволюции. Отсюда, МП выгоднее эндемичная специализация – отступление от пессимального/непредсказуемого края экониши в область предсказуемости, поддержанное превентивнозащитными адаптациями (ПЗА). Действительно, отбору легко сформировать ПЗА, но элиминировать порой труднее, чем функцию организма, защищаемую ПЗА. ПЗА успешно блокируют формирование/функционирование (пре)адаптаций и расселение особей. Например, экспансию из биотопов, недавно бывших островными, пассивно расселяющиеся растения начинают раньше животных (ПЗА – неофобия, страх). Традиционные сценарии аро/алломорфозов хорошо объясняют адаптивную эволюцию в предковой/новой эконишах (пре/постадаптации), для перехода между ними вынуждены прибегать к нейтрализму и/или дрейфу (не объясняет параллелизм) или усилению отбора (не объясняет противоречий между степенью (пре)адаптаций, размерами МП и успехом инвазии). Противоречие инвазии и легкости формирования ПЗА игнорируется. Предложен сценарий парфорсной эволюции. Факторы пессимальности (ФП) инициируют и отбор в популяции, и стресс особей. Неспецифический адаптационный синдром – стресс, кратковременно обеспечивает устойчивость организма к нескольким стрессорам (ПР – перекрестная резистентность), но долговременно ведет к истощению и/или гибели (дистресс). МП с точки зрения ДХ выгоднее изменить (продолгование ПР, купирование дистресса) течение стресса селекцией небольшой группы его генов, чем тестировать все мутации генома на адаптивность (тем более, стресс временно угашает многие генные сети (ГС) – пространство возможностей эволюции автоматически ограничивается неспецифически адаптивными генами стресса и генами, необходимыми для их obsługi). Консерватизм генов/ГС стресса обеспечит параллелизмы. Лишь стресс-устойчивые особи могут временно, ненаследуемо угашать ПЗА, что позволяет систематически, а не случайно выходить в область непредсказуемости. Усталость – следствие интерференции ГС стресса/обслуги – развиваясь задолго до исчерпания ресурсов организма (исчерпание ресурсов – утомление), позволяет превентивно (при отборе – апостериорно) оценить даже без (пре)адаптированных рецепторов опасность дальнейшего пребывания под ФП. Фактически идет адаптация к собственному стрессу (par force – через силу), а не к среде, чьи ФП выступают как стресс-релизеры. Лишь после адаптации к хроническому стрессу может начаться адаптация собственно к среде перебором мутаций и/или рекрутированием генов-паралогов стресса в ГС онтогенеза и рецепции. Выявлены примеры реализации и границы применимости сценария. Любой признак организма – комплекс адаптаций специфических (С-а) и неспецифических (НС-а): индуцибельных (стресс), рутинных (например, тиреогаомеостаз), структурных (например, ГС-состав генома). С-а эффективно эволюционирует на фоне НС-а, когда организм может отрестриктировать данный ФП. Иначе адаптивность поддерживается преимущественно НС-а. При эвадптивной эволюции НС-а в общем должны обгонять С-а, препятствуя формированию эндемизма, ограничивая ПЗА (формирование зрительного рецептора требует, минимум, стресс-системы нейтрализации фотохимически активных молекул, иначе ретиналь опасен организму). Расширяя положение на рутинную и структурную НС-а получаем Закон опережающего развития обслуживающей инфраструктуры.

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



# МОЛЕКУЛЯРНОЕ МАРКИРОВАНИЕ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К БУРОЙ РЖАВЧИНЕ КОЛЛЕКЦИИ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*Triticum aestivum* L.) КАЗАХСТАНА

А.А. Токубаева\*, К.К. Шулембаева, А.Б. Жанаева

Казахский национальный университет им. аль-Фараби (Алматы), Казахстан

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

Традиционные методы выявления вирулентных генов трудоемки и требуют больших затрат времени. В настоящее время развитие ДНК-технологий дало возможность перейти к массовой оценке генетического материала. По данным MAS (Marker assisted selection), используемый для повышения глобального производства сельскохозяйственных культур и для улучшения генома растений новый подход, основанный на молекулярной маркерной технологии, является ценным инструментом в отборе сортов по хозяйственно ценным признакам. Селекция с помощью маркеров облегчает отбор устойчивых сортов, основываясь на тесной связи между маркерными аллелями и геном, отвечающим за качественные признаки. По данным исследования CIMMYT (International Maize and Wheat Improvement Center) показано, что сочетание 4-5 генов устойчивости приводит к высокому уровню вирулентности, равной с иммунитетом. *Lr*-гены можно идентифицировать с помощью молекулярных маркеров, таких как STS (sequence-tagged site), SSR (simple sequence repeat), RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), SCAR (sequence-characterized amplified regions), CAPS (cleaved amplified polymorphic sequence), RGA (resistance gene analog polymorphisms). В данной статье обсуждаются результаты работы, проведенные с помощью молекулярных маркеров для идентификации эффективных для юго-востока Казахстана генов *Lr26*, *Lr28*, *Lr34* и *Lr37* у местных сортов пшеницы и коллекции мировой селекции. Использование SCAR и STS маркеров значительно ускорило идентификацию генотипа устойчивости образцов мягкой пшеницы. Полимеразная цепная реакция с использованием праймеров Iag95F, Iag95R, Lr28-01, Lr28-02, csLV34F, csLV34R, VENTRIUP, LN2 у 53 образцов мягкой пшеницы, в том числе 48 сортообразцов и 5 диких видов, позволила идентифицировать ряд генов устойчивости к бурой ржавчине. С использованием праймеров Iag95F, Iag95R идентифицирован ген *Lr26* у 9 сортообразцов пшеницы и у диких видов *Tr. timopheevii* и *Tr. kiharae*. Маркеры *Lr28-01*, *Lr28-02*, тесно сцепленные с геном *Lr28*, амплифицировали специфический фрагмент 378 п.н. у всех образцов. Выявленные ДНК маркеры *Lr28-01*, *Lr28-02* не позволяют надежно идентифицировать образцы пшеницы, имеющие гены возрастной устойчивости *Lr28*, так как наличие этого гена обнаружено не только у сортообразцов, но и у высоковосприимчивого сорта Thatcher. Это подвергает сомнению использование их в качестве маркеров. С помощью STS-праймеров csLV34F, csLV34R был обнаружен ген *Lr34* у 19 сортообразцов пшеницы. STS маркеры VENTRIUP, LN2, тесно сцепленные с геном *Lr37*, амплифицировали специфический продукт 259 п.н. у диких видов *Tr. timopheevii*, *Tr. kiharae*, *Ae. ventricosa* и интрогрессивной линии л-344. Таким образом, впервые с использованием молекулярных маркеров - Iag95, csLV34, VENTRIUP-LN2 у большинства сортов местной селекции идентифицированы гены *Lr26*, *Lr34*, *Lr37*. В дальнейших исследованиях планируется изучить широкий спектр сортообразцов местной селекции по эффективным генам *Lr* изогенных линий сорта Thatcher.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЭВОЛЮЦИИ БЕЛКОВ ГЕННОЙ СЕТИ БИОСИНТЕЗА АУКСИНА У РАСТЕНИЙ

***И.И. Турнаев\****<sup>1</sup>, ***К.В. Гунбин***<sup>1</sup>, ***В.В. Миронова***<sup>1</sup>, ***Н.А. Омелянчук***<sup>1</sup>, ***И.Р. Акбердин***<sup>1</sup>,  
***Д.А. Афонников***<sup>1,2</sup>

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

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

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

Ауксин является фундаментальным регулятором роста и развития растений. В 2011 году был открыт путь биосинтеза ауксина, который, возможно, является основным для всех сухопутных растений. Растительный путь биосинтеза ауксина включает два этапа: 1) универсальный, для живых организмов, путь биосинтеза триптофана из хоризмата «-ASA/ASB-PAT-PAI-IGPS-TSA-TSB-»; 2) специфический для растений путь биосинтеза ауксина из триптофана «-TAA-YUC-». Таким образом, структура пути известна, но неизвестно, насколько этот путь универсален и эволюционно консервативен среди различных таксонов растений. Для исследования консервативности пути биосинтеза ауксина нами было проведено исследование распространённости его ферментов у растений. Анализ распространённости ферментов пути биосинтеза ауксина проводился с использованием полноразмерных белковые последовательности из полногеномных проектов. В результате было выявлено, что ферменты пути биосинтеза триптофана из хоризмата представлены у представителей всех исследованных таксонов растений, тогда как ферменты пути биосинтеза ауксина из триптофана TAA и YUC представлены только в таксонах сухопутных растений. Так как среди секвенированных растений представлены не всех растительные таксоны, то для более детального исследования консервативности ферментов пути биосинтеза ауксина из триптофана TAA и YUC дополнительно были взяты EST последовательности. В результате, было показано, что эти ферменты представлены у большинства таксонов сухопутных растений. Исследование происхождения и эволюции пути биосинтеза ауксина у растений было проведено с помощью анализа филогенетических взаимоотношения между полноразмерными белками каждого из семейств ферментов исследуемого пути методом mrBayes. В результате, было выявлено, что дивергенция в ходе эволюции белков, во всех семействах исследуемых ферментов, за исключением YUC, произошла у растений в соответствии с выделением у них крупных таксонов: мхов и плаунов, однодольных и двудольных растений, после чего белки дивергировали уже внутри этих таксонов на 1-3 кластера паралогичных белков. Отличительной чертой эволюции белков семейства YUC является их дивергенция на 4 паралогичных кластера у общих предков семенных растений, так что каждый из кластеров включает представителей и однодольных и двудольных. Чтобы уточнить, когда в эволюции произошла дивергенция белков YUC на 4 кластера, было проведено дополнительное исследование их филогении, включающее как полноразмерные, так и EST последовательности белков. В результате было установлено, что момент дивергенции белков YUC на паралоги произошёл на дереве после появления папоротников, но до появления голосемянных растений. Ранее было известно, что в ходе эволюции имел место горизонтальный перенос белков YUC между мхами и некоторыми видами бактерий. Для выяснения происхождения семейства YUC у растений важно определить направление данного горизонтального переноса и его роль в образовании белкового семейства. Для этого было построено филогенетическое дерево суперсемейства FMO (флаavin монооксигеназ), включающее семейство YUC, содержащее последовательности растений, животных, грибов, простейших и прокариот. Результаты этого филогенетического исследования свидетельствуют в пользу гипотезы о том, что горизонтальный перенос белков YUC произошёл либо непосредственно в направлении от сухопутных растений к бактериям, либо в два приёма, сначала от сухопутных растений к простейшим, а затем уже от простейших к бактериям.

Благодарности: РФФИ 11-04-01748-а; программа РАН А.П.6.8; инт/пр. СО РАН 130 и 39; "Научная школа" НШ-5278.2012.4; программа РАН "Происхождение и эволюция биосферы".

## ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

И.М. Хидиятов\*<sup>1</sup>, Г.Н. Ахмадеева<sup>1</sup>, К.В. Путенихина<sup>1</sup>, И.Р. Гилязова<sup>1</sup>, А.Р. Байтимеров<sup>2</sup>, Р.В. Магжанов<sup>2</sup>, Э.К. Хуснутдинова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН (Уфа), Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Башкирский государственный медицинский университет (Уфа), Россия

\*e-mail: imkhid@mail.ru

Болезнь Паркинсона (БП) – прогрессирующее нейродегенеративное заболевание, частота которого среди лиц старше 55 лет составляет ~ 2%. В Республике Башкортостан (РБ) распространенность БП составляет 68.6 на 100 000 взрослого населения; частота семейных форм – 5.95%. Молекулярно-генетическое исследование БП проведено на основе банка ДНК больных (560) и контроля (670), представителей трех этнических групп – русских, татар и башкир. Исследование включало: 1) поиск у больных мутаций в генах, связанных с моногенными формами БП –  $\alpha$ -синуклеина (*PARK1*), паркина (*PARK2*) и дардарина (*LRRK2*); 2) анализ ассоциации спорадической БП с полиморфными вариантами 17-и генов-кандидатов (системы детоксикации ксенобиотиков, метаболизма моноаминов, гена калиевого канала *KCNJ6*); 3) анализ мтДНК у пациентов с БП и в контрольных группах; 4) репликацию данных полногеномных анализов ассоциаций с БП (GWAS) по 7-и полиморфным локусам.

В результате исследования у больных со спорадической формой БП в гене *PARK2* выявлена новая мутация – делеция 12-го экзона в гетерозиготном состоянии, с частотой 5.26; в гене *LRRK2* обнаружены миссенс-мутация *p.Gly2019Ser* (1.79% среди башкир), и *p.Gly2385Arg* (1.28% среди татар). Установлено, что генетическими маркерами риска развития БП для всех исследованных этнических групп населения Башкортостана являются *Alu*-инсерция *Yb8NBC36* гена *KCNJ6* ( $p=0,007$ ) и аллель \*7 48 bp -VNTR-локуса в 3 экзоне гена *DRD4* ( $p=0,02$ ; OR=2,0). Наряду с этим, в популяции татар маркерами риска развития БП можно считать генотип \*H/\*H ( $p=0,0006$ ; OR=2,3) и аллель \*H локуса *Val108Met* гена *COMT*; генотип \*C\*C ( $p=0,002$ ; OR=1,7) и аллель \*C ( $p=0,02$ ; OR=1,34) локуса *rs1800532* гена *TPH1*; аллель \*12 локуса *STin2* ( $p=0,04$ ; OR=1,3) гена 5-НТТ; в популяции башкир – аллель \*C локуса *rs6280* гена *DRD3* ( $p=0,02$ ; OR=1,85). Выявлено модифицирующее влияние определенных генотипов и аллелей отдельных генов на характер клинического течения и возраст манифестации БП. В результате репликации данных GWAS в трех этнических группах населения РБ отдельные ассоциации с БП выявлены только в популяциях русских и татар. Маркерами риска развития БП для русских можно считать аллели \*G локуса *rs356219* ( $p=0,006$ ; OR=1,58), \*G локуса *rs356165* ( $p=0,006$ ; OR=1,58), генотип \*T\*C локуса *rs2737020* гена *SNCA* ( $p=0,02$ ; OR=1,67), генотип \*G\*A ( $p=0,06$ ; OR=2,09;) и аллель \*A ( $p=0,007$ ; OR=2,12) локуса *rs11012* *MAPT*-региона; для татар – генотип \*C\*C ( $p=0,01$ ; OR=1,75;) и аллель \*C ( $p=0,02$ ; OR=1,60;) локуса *rs2942168*, генотип \*A\*A ( $p=0,001$ ; OR=2,06) и аллель \*A ( $p=0,01$ ; OR=1,92) локуса *rs393152*, генотип \*C\*C ( $p=0,01$ ; OR=1,57) и аллель \*C ( $p=0,049$ ; OR=1,3) локуса *rs1724425* *MAPT*-региона. В результате исследования мтДНК было установлено, что в популяции татар гаплогруппа *H* мтДНК является генетическим маркером повышенного риска, а гаплогруппа *U* – маркером пониженного риска развития спорадической формы БП. В гене митохондриального цитохрома *B* выявлен гаплотип 15693C-15218A-14793A, ассоциированный с гаплогруппой *U*, не обнаруженный у пациентов с БП. В результате полного секвенирования мтДНК у 4-х пациентов БП татарской этнической принадлежности у носителя субгаплогруппы *H2* выявлена мутация *Ala64Thr* в гене *ND2* в гомоплазмическом состоянии, а у носителя гаплогруппы *Uk1* – мутация *Glu18Lys* в гене *COII* в гетероплазмическом состоянии. Выявленные этно-специфические генетические маркеры БП могут быть использованы для раннего определения риска развития заболевания у жителей соответствующих регионов с целью его профилактики.

## ИЗУЧЕНИЕ РОЛИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА ОСТЕОПРОТЕГЕРИНА (*OPG*) В РАЗВИТИИ ОСТЕОПОРОЗА

Р.И. Хусаинова\*<sup>1</sup>, Р. Шакирова<sup>1</sup>, А. Мальцев<sup>2</sup>, Э.К. Хуснутдинова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН (Уфа), Россия

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет (Уфа), Россия

\* e-mail: ritakh@mail.ru

Остеопороз (ОП) – это системное заболевание скелета, характеризующееся снижением костной массы, микроархитектурными нарушениями костной ткани, приводящими к повышению ломкости костей. По данным Всемирной организации здравоохранения по частоте и причинам инвалидности и смертности больных ОП занимает четвертое место после таких заболеваний как сердечно-сосудистые, онкологическая патология и сахарный диабет. В последние годы с применением нескольких подходов были проведены широкомасштабные исследования по идентификации генов, вовлеченных в патогенез остеопороза, среди них анализ сцепления в семьях, анализ ассоциаций кандидатных генов в исследованиях случай-контроль, полногеномный анализ ассоциаций (GWAS) однонуклеотидных полиморфных вариантов (SNP). В результате проведенных исследований идентифицированы порядка 100 геномных локусов, ассоциированных с уровнем минеральной плотности костной ткани (МПКТ) переломами, продукты которых в основном вовлечены в метаболические пути остеопротегерин/*RANK/RANKL*, *Wnt*, а также в развитие остеобластов из мезенхимальных стволовых клеток. Однако, несмотря на достигнутый прогресс в изучении молекулярно-генетических основ заболевания в целом и отдельных фенотипических проявлений ОП, существуют и противоречивые результаты, обусловленные, вероятно, отсутствием статистических возможностей для выявления точных эффектов ответственных генов и стандартизированных методов и подходов для определения генетических маркеров развития заболевания, а также особенностями генетической структуры изученных популяций. На современном этапе одной из важнейших задач идентификации генетических факторов остеопороза является репликация результатов GWAS-исследований в различных популяциях, позволяющая выявить как общие закономерности, так и этноспецифичные маркеры развития заболевания. Целью данного исследования является изучение полиморфных вариантов *c.6890-8A>C* (*rs7844539*), *c.1217-15C>T* (*rs3102734*) *c.950T>C* (*rs2073617*), *163A>G* (*rs3102735*), *1181 G>C* (*rs2073618*), *245T>G* (*rs3134069*) и в гене остеопротегерина (*OPG*, *TNFRSF11B*) у мужчин и женщин, больных остеопорозом, в соответствующих контрольных группах и поиск ассоциаций изученных локусов с переломами и уровнем МПКТ. В работе использованы образцы ДНК 457 мужчин (40-80 лет) и 845 женщин (постменопаузального возраста) русской и татарской этнической принадлежности. Ген *OPG* является наиболее значимым кандидатным геном, остеопротегерин связывая ключевой фактор активации остеокластов (*RANKL*) приводит к снижению остеокластогенеза. При исследовании полиморфных вариантов *c.6890-8A>C* (*rs7844539*), *c.1217-15C>T* (*rs3102734*) *c.950T>C* (*rs2073617*), *163A>G* (*rs3102735*) гена остеопротегерина (*OPG*, *TNFRSF11B*) не выявлено ассоциаций с развитием переломов и уровнем МПКТ у мужчин русской этнической принадлежности. Обнаружена ассоциация гетерозиготного генотипа \*GC локуса *1181G>C* гена *OPG* с повышенным риском ( $\chi^2=7,11$ ,  $p=0,0007$ , OR=1,95 (1,19-3,19)), генотипа \*CC – с пониженным риском развития остеопороза у мужчин русской этнической принадлежности ( $\chi^2=6,65$ ,  $p=0,0009$ , OR=0,49 (0,28-0,84)). Наши данные согласуются с результатами других исследователей. По литературным данным локус *1181G>C* гена *OPG* был ассоциирован с низкими значениями МПКТ у мужчин европейского происхождения. Данный локус не ассоциирован с переломами у мужчин и женщин, а также с уровнем МПКТ у женщин. Выявлена ассоциация аллеля \*T полиморфного варианта *c.1217-15C>T* (*rs3102734*) с переломами у женщин как татарской ( $\chi^2=11,92$ ,  $p=0,0005$ , OR=3,94 (1,73-8,99)), так и русской этнической принадлежности ( $\chi^2=21,56$ ,  $p=0,000003$ , OR=2,58 (1,71-3,94)) и снижением уровня МПКТ у женщин татарской этнической принадлежности ( $\chi^2=4,16$ ,  $p=0,041$ , OR=4,33 (0,94-19,83)). По данным литературы локус *c.1217-15C>T* гена *OPG* был ассоциирован с развитием переломов у китайских женщин постменопаузального возраста. Таким образом, обнаружена значимость локуса *1181G>C* гена *OPG* в формировании низкого уровня МПКТ у мужчин русской этнической принадлежности, полиморфного варианта *c.1217-15C>T* в развитии переломов у женщин татарской и русской этнической принадлежности и пониженного уровня МПКТ у женщин татарской этнической принадлежности.

# ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ БЕЛКОВ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИНОВОЙ И СИМПАТОАДРЕНАЛОВОЙ СИСТЕМ У БОЛЬНЫХ С ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ

***Н.Н. Чакова\**<sup>1</sup>, *С.С. Ниязова*<sup>1</sup>, *С.М. Комиссарова*<sup>2</sup>, *Н.В. Чеботарева*<sup>1</sup>, *Е.П. Михаленко*<sup>1</sup>, *Э.В. Крупнова*<sup>1</sup>**

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

*2* Республиканский научно-практический центр «Кардиология» (Минск), Беларусь

\*e-mail: n.chakova@igc.bas-net.by

Гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) – тяжелое аутосомно-доминантное заболевание, характеризующееся гипертрофией (утолщением) стенки левого и/или редко правого желудочка. Частота встречаемости данной патологии среди населения составляет в среднем 0,2%. Заболевание вызывается, чаще всего, мутациями в генах, кодирующих синтез сократительных белков миокарда. При этом у больных с одинаковыми мутациями наблюдаются существенные различия в клинических проявлениях заболевания. Этот феномен объясняют влиянием генов-модификаторов, кодирующих белки ренин-ангиотензиновой системы (РАС) и симпатoadреналовой системы (САС). РАС и САС – две основных системы регуляции кровообращения, взаимно влияющих друг на друга. Одним из наиболее значимых факторов РАС в отношении клинических проявлений ГКМП является ангиотензин II (АII), повышенный уровень которого способствует клеточной пролиферации и гипертрофии сердечной мышцы. При этом, АII значительно усиливает действие СНС на сердце и сосуды, увеличивая высвобождение норадреналина и повышая чувствительность адренергических рецепторов к агонистам. Стимуляция же симпатических нервов сопровождается высвобождением ренина, которое может устраняться блокадой  $\beta$ -адренорецепторов. В настоящее время широко исследуется генетический полиморфизм белков обеих систем для поиска ассоциаций полиморфных вариантов генов с фенотипическими особенностями различных заболеваний миокарда. Целью работы было комплексное изучение влияния полиморфизма генов, кодирующих ангиотензинпревращающий фермент (ген ACE) и рецептор к ангиотензину II первого типа (ген *AGTR1*), а также  $\beta$ 1- и  $\beta$ 2-адренорецепторов (ген *ADRB1*, ген *ADRB2*) на формирование фенотипических проявлений ГКМП. В исследование были включены 231 пациент с ГКМП (153 мужчины и 78 женщин, средний возраст 47,0±13,1 лет), проходивших лечение в РНПЦ «Кардиология». Контрольную выборку составили 144 донора без фенотипических признаков данной патологии, сопоставимых по возрасту и полу с пациентами. У всех обследуемых с использованием метода ПЦР-ПДРФ анализа определяли полиморфные варианты генов *ADRB1* (полиморфизмы *Ser49Gly*, *Arg389Gly*), *ADRB2* (полиморфизмы *Arg16Gly*, *Gln27Glu*), ACE (*I/D* полиморфизм) и *AGTR1* (полиморфизм A1166C). Анализ межгенных взаимодействий полиморфных локусов проводили методом редукции мультифакторных пространств – Multifactor Dimensionality Reduction (MDR). Вклад каждого гена оценивался величиной I (величина информации, removeentropy), выраженной в %. Об ассоциации генотипов с развитием ГКМП судили по величине odds ratio (OR). Анализ взаимодействия полиморфных локусов исследуемых генов РАС и САС показал, что наибольший вклад в формирование клинических проявлений ГКМП вносят гены *ADRB1* (*ISer49Gly* =1,84%), *ADRB2* (*IGln27Glu*=0,80%) и ACE (*I/D*=0,64%), а наименьший – ген *AGTR1* (*IA1166C* =0,02%). Сравнительный анализ распределения генотипов исследуемых генов с контрольной группой позволил выявить следующие достоверные различия: генотип *Ser49Ser* (*ADRB1*) чаще встречался в группе больных ГКМП (OR=1,88;  $\chi^2=6,92$ ;  $p=0,009$ ), при этом в комбинации с гетерозиготным генотипом *Gln27Glu* (*ADRB2*) значение OR увеличивалось (OR=2,01;  $\chi^2=8,05$ ;  $p=0,05$ ), т.е. рискованная значимость генотипа *Ser49Ser* (*ADRB1*) повышалась. Сочетание же этого генотипа с гомозиготной комбинацией генотипов "*Gln27Gln*(*ADRB2*) / *I*(ACE)" в 2,6 раз реже встречалось в группе пациентов (OR=0,36;  $\chi^2=5,41$ ;  $p=0,02$ ), что указывает на защитное действие этого генотипа в отношении проявления фенотипических признаков ГКМП. Наши результаты подтверждают данные о значимом влиянии РАС и САС в формировании клинических признаков ГКМП и показывают, что анализ взаимодействий полиморфных локусов генов этих систем может быть перспективным в подобных исследованиях.

# МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ РОСТ, РАЗВИТИЕ И РЕАКЦИЮ НА ФОТОПЕРИОД У УКРАИНСКИХ И РОССИЙСКИХ СОРТОВ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

С.В. Чеботарь<sup>\*1,2</sup>, Г.А. Чеботарь<sup>1</sup>, А.Б. Щербань<sup>3</sup>, И.А. Балашова<sup>1</sup>, В.И. Файт<sup>1</sup>, В.Р. Федорова<sup>1</sup>, Е.А. Салина<sup>3</sup>, Ю.М. Сиволап<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Селекционно-генетический институт - Национальный центр семеноведения и сортоизучения (Одесса), Украина

<sup>2</sup>Одесский Национальный университет имени И.И. Мечникова (Одесса), Украина

<sup>3</sup>ФГБУН Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия

\*e-mail: s.v.chebotar@gmail.com

Информация о генах роста и цветения растений является важной для понимания адаптивных процессов к условиям окружающей среды (Жученко, Король, 1985). У злаков рост и цветение регулируются генами яровизации, фотопериодической чувствительности, которые действуют в условиях снижения температуры окружающей среды и зависят от продолжительности светового дня, а также генами короткостебельности (*Rht*). Благодаря селекционной работе определенные аллели этих генов собраны в генотипах современных сортов как блоки коадаптивных генов, функционально взаимосвязанные, которые могут рассматриваться в качестве звеньев генетических сетей.

Целью работы являлось определение генотипов сортов пшеницы яровой украинской и российской селекции по аллелям генов, контролирующих высоту растений (*Rht8*, *Rht-B1*, *Rht-D1*), чувствительность к фотопериоду (*Ppd-D1*) и реакцию на яровизацию (*Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *Vrn-D1*), а также выявление эффектов аллелей упомянутых локусов на высоту растений и продолжительность периода до колошения.

С помощью молекулярно-генетического анализа генов короткостебельности *Rht-B1*, *Rht-D1* установлено, что в выборке исследованных российских сортов отсутствуют аллели *Rht-B1b*, *Rht-D1b*, которые приводят к короткостебельному фенотипу. Среди сортов из коллекции НЦГРР Украины по 15% сортов являются носителями *Rht-B1b* и *Rht-D1b* аллелей. В исследованных наборах яровых сортов пшеницы Украины и РФ, наиболее распространенным был аллель *Ppd-D1b*, который определяет чувствительность к фотопериоду. Только у четырех из 27 сортов яровой пшеницы, рекомендованных для выращивания в Украине, выявлен аллель *Ppd-D1a*, при этом детектированы и гетерогенные по локусу *Ppd-D1* сорта. Все сорта пшеницы яровой из коллекции ИЦиГ имели *Ppd-D1b* аллель. Выявлено 6 и 5 аллелей, соответственно, по локусу *Xgwm261* у яровых сортов украинской и российской селекции. Показно, что 33,3% российских и 57,7% украинских сортов пшеницы яровой содержат *Vrn-B1c* аллель. В исследованной выборке сортов не обнаружено доминантного аллеля *Vrn-D1*. Независимо от комбинации *Vrn*-генов наблюдали тенденцию уменьшения периода всходы-колошение при наличии *Ppd-D1a* аллеля в генотипе, при этом наименьшей продолжительностью периода до колошения характеризовались сорта с комбинацией аллелей *Vrn-A1a vrn-B1 vrn-D1*.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (Госконтракт 14.512.11.0062), а также Государственного фонда фундаментальных исследований Украины по программе Ф-40 ДФФД (2011-2012 гг.) договор №174.

## АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ ММР1 И ММР2 С ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЖЕЛУДКА И ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ В РЕСПУБЛИКЕ БАШКОРТОСТАН

Э.Х. Шаймарданова<sup>\*1</sup>, А.Х. Нургалеева<sup>1,2</sup>, Л.В. Габбасова<sup>3</sup>, О.А. Курамшина<sup>3</sup>,  
А.Я. Крюкова<sup>3</sup>, И.М. Хидиятова<sup>2</sup>, Э.К. Хуснутдинова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВПО Башкирский государственный университет (Уфа), Россия

<sup>2</sup> ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН (Уфа), Россия

<sup>3</sup> ФГБОУ ВПО Башкирский Государственный Медицинский Университет (Уфа), Россия

\*e-mail: elza817@mail.ru

Язвенная болезнь (ЯБ) – это хроническое заболевание, в основе которого лежит рецидивирующая язва желудка (ЯБЖ) или двенадцатиперстной кишки (ЯБДПК). Распространённость язвенной болезни двенадцатиперстной кишки (ЯБДПК) составляет от 6 до 15%, распространённость язвенной болезни желудка (ЯБЖ) в 3-4 раза ниже. В настоящее время выделена группа факторов, которые предрасполагают к развитию язвенной болезни: факторы окружающей среды, инфицирование *Helicobacter pylori*, большая роль отводится наследственной предрасположенности. Установлено, что лица, у которых родственники первой линии болеют (болели) язвенной болезнью, имеют повышенный риск развития данной патологии, в 5-10 раз выше, чем люди, не имеющие наследственную отягощенность. Ряд исследований обнаружили, что процесс образования язв желудка и двенадцатиперстной кишки регулируются многими металлопротеиназами (ММР), и полиморфные варианты кодирующих их генов могут повлиять на предрасположенность к формированию язвы желудка и двенадцатиперстной кишки. Целью данного исследования являлось проведение ассоциативного анализа полиморфных вариантов  $-519A>G$  (*rs2276109*) гена металлопротеиназы 1 ММР1 и  $-735 C>T$  (*rs2285053*) гена металлопротеиназы 2 ММР2 с язвенной болезнью в Республике Башкортостан. Было исследовано 238 больных (ЯБЖ,  $n=37$ ; ЯБДПК,  $n=201$ ) различного этнического происхождения (русские, татары, башкиры). Контрольную группу составили 254 практически здоровых индивидов без признаков ЖКТ патологии. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической венозной крови стандартным методом фенольно-хлороформной экстракции. Генотипирование проводили с помощью полимеразной цепной реакции с специфичными праймерами и последующей рестрикцией. Проведенный анализ показал ассоциацию с риском развития ЯБ в объединенной выборке генотипа ММР1\*-519A/G полиморфного варианта  $-519A>G$  гена ММР1, который встречался в группе больных с частотой 48,7%, в контрольной группе - 35,04% ( $p=0,002$ ;  $\chi^2=9,48$ ; OR=1,76; 95% CI=1,22–2,53). При разделении групп испытуемых на подгруппы согласно их этнической принадлежности также были выявлены ассоциации гетерозиготного генотипа с ЯБЖ и ЯБДПК у русских и татар ( $p=0,02$ ;  $\chi^2=4,83$ ; OR=1,86; 95% CI=1,06 – 3,25 и  $p=0,001$ ;  $\chi^2=10,19$ ; OR=2,58; 95% CI=1,43–4,66, соответственно). Помимо этого, мужчины, являющиеся носителями варианта ММР1\*-519A/G, тоже имеют повышенный риск развития болезни ( $p=0,005$ ;  $\chi^2=7,74$ ; OR=1,79; 95% CI=1,18 – 2,70). Установлено, что у лиц татарской этнической принадлежности в контрольной группе достоверно чаще (53,61% случаев), чем в группе больных (36,78% случаев), встречался генотип ММР1\*-519A/A ( $p=0,01$ ;  $\chi^2=6,16$ ; OR=0,48; 95% CI=0,27 – 0,86), подобная статистически значимая закономерность обнаружена и у мужчин - частота встречаемости гомозигот ММР1\*-519A/A у больных и здоровых индивидов – 41,66% и 54,21%, соответственно ( $p=0,01$ ;  $\chi^2=6,02$ ; OR=0,61; 95% CI=0,40–0,91). Исследование полиморфного варианта  $-735 C>T$  гена ММР2 с ЯБ не выявило статистически значимых различий между пациентами и здоровыми донорами ( $p>0,05$ ). Проведен анализ ассоциаций с ЯБ сочетаний генотипов по двум изученным локусам, в результате которого обнаружено, что у татар с генотипом AGCC имеется повышенный риск развития ЯБ ( $p=0,01$ ; OR=2,38); подобная статистически значимая закономерность обнаружена и у мужчин ( $p=0,002$ ; OR=2,16). Таким образом, в результате данного исследования была выявлена ассоциация полиморфного варианта  $-519A>G$  гена ММР1 с язвенной болезнью в Республике Башкортостан.

## **АБЕРРАНТНАЯ ЭКСПРЕССИЯ МИКРОРНК ПРИ ИНДУКЦИИ ДВУНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ И ПОПЕРЕЧНЫХ СШИВОК ДНК В КЛЕТКАХ HeLa**

***Е.Ф. Шин\****, Д.Г. Матишов, Н.В. Бойко, А.Д. Белдовская, А.Ю. Голиков, В.А. Тарасов, М. Махоткин

*ФГБУН Институт аридных зон Южного научного центра РАН (Ростов-на-Дону), Россия*

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

В клетках HeLa исследовалась аберрантная экспрессия микроРНК после индукции межнитевых сшивок и разрывов ДНК. В качестве индуктора повреждения ДНК использовались гамма-кванты  $Co^{60}$  в дозе 2,5 Гр и митомицин С в концентрации 5 мкг/мл среды. Содержание микроРНК в клетках оценивалось с помощью метода параллельного множественного секвенирования кДНК-копий микроРНК на платформе MiSeq System. Учитывались микроРНК, концентрация которых отличалась от таковой в опытных вариантах не менее чем в 1,5 раза по сравнению с интактными клетками с уровнем значимости менее 0,001. Оказалось, что при облучении в 11 из 380 микроРНК, включенных в анализ, значительно меняется уровень экспрессии. Причем для 8 микроРНК эти изменения экспрессии наблюдаются не только в первом после радиационного воздействия клеточном цикле, но и в клетках-потомках спустя 5-6 клеточных делений. Аналогичные показатели для митомицина С составляют значения 25 и 21 микроРНК, соответственно.



## ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ

***В.В. Эрдман\****, Т. Насибуллин, И. Туктарова, Р. Сомова, Д. Каримов, О. Мустафина

ФГБУН Институт биохимии и генетики УНЦ РАН (Уфа), Россия

\*e-mail: danivera@mail.ru

В реализации механизмов старения организма важную роль играют гены, белковые продукты которых занимают ключевые позиции в регуляции и осуществлении целого ряда внутриклеточных процессов, как физиологических, так и патологических. В частности, к таким генам-кандидатам, определяющим продолжительность жизни, относятся гены транскрипционных факторов, цитокинов, апоптоза, инсулинового сигналинга, оксидативного стресса. Предполагается, что одними из главных молекулярных событий, способных изменять скорость старения и определять тем самым долголетие, являются распространенные точковые мутации – полиморфизмы. Цель исследования заключалась в изучении значимости полиморфных маркеров ряда генов для достижения возраста старости и долголетия у человека. Материалом для работы послужили образцы ДНК, полученные от 1602 неродственных между собой лиц (мужчин и женщин) в возрасте от 16 до 109 лет, принадлежащих к этнически однородной группе (татары, Республика Башкортостан). Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) и рестрикционного анализа (ПЦР-ПДРФ) были изучены полиморфные локусы генов *IL6* (*rs1800796*), *IL10* (*rs1800872*), *IL12B* (*rs3212227*), *TNFA* (*rs1800629*), *MSRA* (*rs10098474*), *SOD2* (*rs4880*), *SIRT1* (*rs3758391*), *NFKB1* (*rs4648110*), *TP53* (*rs1042522*), *BAX* (*rs1805419*), *BCL2* (*rs12454712*), *CASP8* (*rs3834129*), *FOXO1A* (*rs4943794*), *FOXO3A* (*rs3800231*), *STAT5A* (*rs9889323*), *JAK1* (*rs310216*) и *JAK3* (*rs3212780*). Последовательности олигонуклеотидных праймеров и эндонуклеазы подобраны при помощи пакета программ “dnastar” и электронной базы данных ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)). Анализ ассоциаций полиморфных локусов генов с возрастом выполняли с применением бинарной логистической регрессии (SPSS V. 18.0). Согласно результатам проведенного исследования, среди лиц пожилого возраста наблюдается увеличение частоты встречаемости генотипа *IL6*\*G/\*G (OR=1.020,  $p=0.023$ ) у женщин и генотипов *IL10*\*A/\*C (OR=1.034,  $p<0.001$ ) и *NFKB1*\*T/\*T (OR=1.014,  $p=0.028$ ) у мужчин; снижается частота генотипа *IL10*\*C/\*C среди пожилых мужчин (OR=0.956,  $p<0.001$ ) и частота генотипа *FOXO1*\*G/\*G среди пожилых женщин (OR=0.976,  $p=0.039$ ). В старческом возрасте среди мужчин происходит нарастание частоты генотипа *SOD2*\*V/\*V (OR=1.021,  $p<0.001$ ), *TP53*\*P/\*P (OR=1.012,  $p=0.029$ ) и *BCL2*\*C/\*C (OR=1.017,  $p=0.001$ ) и убывание частоты генотипа *CASP8*\*I/\*I (OR=0.991,  $p=0.045$ ) и *BCL2*\*T/\*T (OR=0.989,  $p=0.002$ ). У женщин с достижением старческого возраста положительно ассоциирован генотип *SIRT1*\*C/\*C (OR=1.016,  $p=0.010$ ), *STAT5A*\*C/\*T (OR=1.044,  $p<0.001$ ) и *JAK3*\*C/T (OR=1.019,  $p=0.045$ ), отрицательно – генотип *STAT5A*\*T/\*T (OR=0.978,  $p=0.008$ ). Среди женщин, достигших возраста долголетия, возрастает доля носительниц генотипов *SOD2*\*V/\*V (OR=1.021,  $p<0.001$ ), *TNFA*\*G/\*A (OR=1.014,  $p=0.012$ ), *BCL2*\*T/\*T (OR=1.023,  $p=0.002$ ) и *BAX*\*A/\*A (OR=1.041,  $p=0.002$ ) и снижается доля носительниц генотипов *SOD2*\*A/\*V (OR=0.970,  $p<0.001$ ), *TNFA*\*G/\*G (OR=0.956,  $p=0.008$ ), *BCL2*\*C/\*C (OR=0.971,  $p=0.009$ ), *BAX*\*A/\*G (OR=0.968,  $p=0.013$ ) и *BAX*\*G/\*G (OR=0.921,  $p=0.035$ ). Шансы достижения возраста долголетия понижены у мужчин – носителей генотипов *MSRA*\*C/\*C (OR=0.986,  $p=0.014$ ), *BAX*\*G/\*G (OR=0.908,  $p=0.008$ ), *STAT5A*\*T/\*T (OR=0.957,  $p=0.037$ ) и *FOXO3A*\*A/\*G (OR=0.991,  $p=0.002$ ), повышены у мужчин – носителей генотипа *FOXO3A*\*G/\*G (OR=1.010,  $p=0.001$ ). Таким образом, в этнически однородной группе татар выявлены ассоциации с возрастом полиморфных локусов ряда генов. Установлено, что такие ассоциации могут быть ограничены рамками возрастных диапазонов, неодинаковых для носителей разных генотипов, для мужчин и женщин. В целом, полученные данные характеризуют полиморфизмы проанализированных генов, ответственных за реализацию свободнорадикальных, воспалительных, аутоиммунных и апоптотических процессов, как ассоциированные с достижением возраста старости и долголетия. Работа поддержана грантами РФФИ (№13-04-01561а) и РГНФ (№13-06-00633).

# ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НАРУШЕНИЙ МУЖСКОЙ ФЕРТИЛЬНОСТИ ВСЛЕДСТВИЕ ЯДЕРНО-ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ НЕСОВМЕСТИМОСТИ В ОТДАЛЕННЫХ СКРЕЩИВАНИЯХ ГОРОХА (*Pisum L.*)

А.К. Ядрихинский\*, В.С. Богданова

Институт цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск), Россия

\*e-mail: aryadrik@gmail.com

Использование отдаленных скрещиваний при создании новых форм культурных растений сталкивается с проблемой репродуктивных барьеров, преодоление которых является актуальной задачей генетики растений. В нашей лаборатории был обнаружен репродуктивный барьер у гороха в скрещиваниях некоторых диких и культурных форм, обусловленный несовместимостью ядерного и пластидного геномов. Видимым проявлением ядерно-цитоплазматического конфликта чаще всего является сниженная фертильность пыльцы. Генетический анализ показал существование по крайней мере двух несцепленных ядерных генов, *Scs1* и *Scs2*, участвующих в ядерно-цитоплазматической несовместимости. В нашей лаборатории было предложено разделение культурных и диких представителей рода горох (*Pisum*) на четыре эволюционные линии: А, С, D и В на основании анализа трех маркеров из хлоропластного, митохондриального и ядерного геномов. В данной работе проводился генетический анализ ядерно-цитоплазматического конфликта, возникающего при скрещиваниях дикорастущих представителей посевного гороха, ныне объединяемых в сборный подвид *P. sativum* subsp. *elatius*, относящихся к различным эволюционным линиям, с культурным горохом. Показано, что при скрещивании представителей диких форм из групп А и С с культурным горохом возникает ядерно-цитоплазматический конфликт, обусловленный геном *Scs1*, аллельное состояние которого оценивалось по тесно сцепленным маркерам *PhlC*, *Gsn* и *Sym7*. Одним из проявлений конфликта является снижение фертильности пыльцы гибридов, другим проявлением конфликта может служить летальность гибридов. В скрещиваниях образца L100 (линия А) с культурным горохом показано, что в условиях чуждой цитоплазмы аллели гена *Scs1* ведут себя как спорофитные и гаметофитные летали. В скрещивании с культурным горохом образцов 721 из линии А и Л1096 из линии С, ядерно-цитоплазматический конфликт, обусловленный геном *Scs1*, проявляется только при опылении культурного гороха пыльцой дикого образца. При скрещивании независимо domesticiрованного *Pisum abyssinicum*, представляющего линию А, с культурным *Pisum sativum* subsp. *sativum*, ген *Scs1* участвует в формировании ядерно-цитоплазматического конфликта, который, однако, выражен слабее, чем при скрещиваниях с представителями *Pisum sativum* subsp. *elatius* из линий А и С. При скрещивании представителя *Pisum sativum* subsp. *elatius* эволюционной линии В, Л1794, с культурным горохом влияние гена *Scs1* не показано. При скрещивании между собой культурных представителей эволюционных линий В (WL1238) и D (VIR3439) ядерно-цитоплазматического конфликта также не зарегистрировано.

Материалы конференции ВОГиС «Проблемы генетики и селекции» (Новосибирск, 2013)

**Конференция проводится при поддержке  
Российского фонда фундаментальных исследований (13-04-06021-г)**

Подписано в печать 24.06.2013 г. Формат 60×84 1/16.

Бумага офсетная. Печ. л. 4.5. Тираж 160 экз.

Отпечатано в Институте цитологии и генетики СО РАН, пр. Лаврентьева, 10, 630090.