

Федеральное агентство научных организаций
Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики СО РАН
Сибирское отделение Российской академии наук
Межрегиональная общественная организация Вавиловское общество генетиков и селекционеров
Новосибирская областная общественная организация
«Вавиловское общество генетиков и селекционеров»
Новосибирский национальный исследовательский государственный университет
Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины

Federal Agency for Scientific Organizations
The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of SB RAS
Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences
The Vavilov Society of Geneticists and Breeders
Novosibirsk Division of the Vavilov Society of Geneticists and Breeders
Novosibirsk State University
Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine

BELYAEV CONFERENCE
A TRIUMPHANT EVENT IN COMMEMORATION
OF THE CENTENARY OF THE BIRTH
OF ACADEMICIAN DMITRI BELYAEV

Abstracts

August 7–10, 2017
Novosibirsk, Russia

Novosibirsk 2017

БЕЛЯЕВСКИЕ ЧТЕНИЯ
МЕЖДУНАРОДНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ,
ПОСВЯЩЕННАЯ 100-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ
АКАДЕМИКА АН СССР Д.К. БЕЛЯЕВА

Тезисы докладов

*7–10 августа 2017 г.,
Новосибирск, Россия*

Новосибирск 2017

Беляевские чтения : Международная конференция, посвященная 100-летию со дня рождения академика АН СССР Д.К. Беляева (7–10 августа 2017 г., Новосибирск, Россия) : Тезисы докладов = *Belyaev conference : A triumphant event in commemoration of the centenary of the birth of Academician Dmitri Belyaev* (August 7–10, 2017, Novosibirsk, Russia) : Abstracts. – Новосибирск : ИЦиГ СО РАН, 2017. – 255 с. – ISBN 978-5-91291-032-6.

*Председатель конференции –
академик Н.А. Колчанов
Ученый секретарь –
Ю.Э. Гербек, к.б.н.*

*Conference chairman –
Prof. Nikolay Kolchanov, Full Member of RAS
Conference Scientific Secretary –
Dr. Yury Herbeck*

Программный комитет:

*В.К. Шумный, академик (председатель)
П.М. Бородин, д.б.н. (зам. председателя)
Н.Б. Рубцов, д.б.н. (зам. председателя)
С.Г. Инге-Вечтомов, академик
В.П. Пузырёв, академик
И.А. Тихонович, академик
Ю.Э. Гербек, к.б.н.
А.Л. Маркель, д.б.н.
Ю.Л. Орлов, д.б.н.
Л.Н. Трут, д.б.н.
Е.К. Хлесткина, д.б.н.*

Program Committee:

*Prof. Vladimir Shumny, Full Member of RAS (Chairman)
Prof. Pavel Borodin (Vice-chairman)
Prof. Nikolay Rubtsov (Vice-chairman)
Prof. Sergey Inge-Vechtomov, Full Member of RAS
Prof. Valery Puzyrev, Full Member of RAS
Prof. Igor Tikhonovich, Full Member of RAS
Dr. Yury Herbeck
Prof. Arcady Markel
Prof. Yuriy Orlov
Prof. Lyudmila Trut
Prof. Elena Khlestkina*

Оргкомитет:

*С.В. Зубова (председатель)
А.Г. Бузов
С.Г. Вепрев, к.б.н.
Т.В. Карамышева, к.б.н.
С.В. Лаврюшев
Г.В. Орлова, к.б.н.
А.В. Харкевич
О.Г. Чалков
Т.Ф. Чалкова*

Organizing Committee:

*Svetlana Zubova (Chairman)
Alexander Buzov
Dr. Sergey Veprev
Dr. Tatyana Karamysheva
Sergey Lavriushev
Dr. Galina Orlova
Andrey Kharkevich
Oleg Chalkov
Tatyana Chalkova*

Контакты:

*Юрий Эмильевич Гербек (ученый секретарь конференции):
+7(383)363-49-63*1208, belyaev100@icg.cbras.ru
Светлана Васильевна Зубова (председатель оргкомитета):
+7(383)363-49-77, zub@bionet.nsc.ru*

URL: <http://conf.bionet.nsc.ru/belyaev100/>
e-mail: belyaev100@icg.cbras.ru

Организаторы / Organizers



Федеральное агентство научных организаций (ФАНО России)
Federal Agency for Scientific Organizations (FASO Russia)



Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук (ИЦиГ СО РАН)
The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics SB RAS
(ICG SB RAS)



Сибирское отделение Российской академии наук (СО РАН)
Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (SB RAS)



Межрегиональная общественная организация
Вавиловское общество генетиков и селекционеров (МОО ВОГиС)
The Vavilov Society of Geneticists and Breeders



Новосибирская областная общественная организация
«Вавиловское общество генетиков и селекционеров» (НООО ВОГиС)
Novosibirsk Division of the Vavilov Society of Geneticists and Breeders



Новосибирский национальный исследовательский государственный
университет (НГУ)
Novosibirsk State University (NSU)



Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной
медицины (НИИФФМ)
Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine (PhBMRI)

Спонсоры / Sponsors



Федеральное агентство научных организаций (ФАНО России)
Субсидия № 007-02-1259
Federal Agency for Scientific Organizations (FASO Russia)
Subsidy # 007-02-1259



Российский фонд фундаментальных исследований (РФФИ)
Грант № 17-04-2036217
Russian Foundation for Basic Research (RFBR)
Grant # 17-04-2036217



ООО «БИО-РАД ЛАБОРАТОРИИ»
BIO-RAD Laboratories, Inc



Российский научный фонд (РНФ)
Грант № 14-44-00011
Russian Science Foundation (RSF)
Grant # 14-44-00011



Центр нейробиологии и нейрогенетики мозга ИЦиГ СО РАН
Грант № 14.B25.31.0033
Center of Brain Neurobiology and Neurogenetics ICG SB RAS
Grant # 14.B25.31.0033

ИЦиГ СО РАН, Новосибирск

Директор – академик РАН Николай Александрович Колчанов

Ученый секретарь – Галина Владимировна Орлова, кандидат биологических наук

тел.: +7(383) 363-49-85, доп. 1336, e-mail: OrlovaGV@icg.sbras.ru, gorlova@bionet.nsc.ru

Институт создан в 1957 г. в числе первых институтов Сибирского отделения АН СССР. В настоящее время ИЦиГ СО РАН – мультидисциплинарный, многопрофильный биологический институт, который по праву считается одним из ведущих научных учреждений биологического профиля в России. В мае 2017 г. закончился второй этап реорганизации Федерального исследовательского центра Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН. На сегодняшний день ФИЦ включает три филиала:

Сибирский научно-исследовательский институт растениеводства и селекции (СИБНИИРС),

Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии (НИИКЭЛ),

Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины (НИИТПМ).

Миссия ИЦиГ СО РАН. Решение приоритетных задач развития научно-технологического комплекса РФ в области генетики и селекции растений, генетики и селекции животных, генетики человека, биотехнологии и фундаментальной медицины на основе методов молекулярной генетики, клеточной биологии и биоинформатики.

Стратегическая задача. Проведение полных циклов исследований от генерации фундаментальных знаний до прикладных разработок в области генетики и селекции растений, генетики и селекции животных, генетики человека, фундаментальной медицины и биотехнологии на основе методов молекулярной генетики, клеточной биологии и биоинформатики, имеющих приоритетное значение для решения задач агропромышленного, биотехнологического, медико-биологического и фармацевтического комплексов России.

Кадровый состав. На 1 июня 2017 г. структура ФИЦ ИЦиГ СО РАН состоит из 88 научных подразделений, в которых работает 1394 человека, в том числе 513 научных сотрудников, из которых 187 сотрудников в возрасте до 39 лет, 2 советника РАН, 8 академиков РАН, 4 члена-корреспондента РАН, 90 докторов наук, 296 кандидатов наук.

Аспирантура и ординатура. На 1 июня 2017 г. в аспирантуре ФИЦ ИЦиГ СО РАН обучается 77 аспирантов и 18 ординаторов.

Публикации. Институт активно печатается в российских и зарубежных журналах и является в российской биологии одним из признанных лидеров. За 2016 г. опубликовано 309 статей, зарегистрированных в международной базе Web of Science (WoS), общее количество статей в рецензируемых журналах – более 450. В 2016 г. статьи сотрудников института цитировались в WoS более 4350 раз.

Инфраструктура ИЦиГ СО РАН. ЦКП «Центр генетических ресурсов лабораторных животных (ЦГР)» с включенной в него уникальной научной установкой SPF-виварий и семь центров коллективного пользования (<http://www.bionet.nsc.ru/uslugi/>).

Имущественный комплекс. Земельные участки площадью более 30 тыс. га, закрепленные на праве постоянного пользования; 85 тыс. м² рабочих площадей, расположенных на территории Советского района г. Новосибирска, Барышевского сельского совета Новосибирской области, в Искитимском и Черепановском районах НСО, в пос. Краснообск НСО.

Федеральный исследовательский центр ИЦиГ СО РАН приглашает к сотрудничеству научные и коммерческие организации!

Адрес: 630090, Россия, Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, 10

тел./факс: +7(383) 363-49-80/+7(383) 333-12-78

URL: www.bionet.nsc.ru

e-mail: icg-adm@bionet.nsc.ru

Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

Director: Full Member of the Russian Academy of Sciences Professor Nikolay A. Kolchanov

Academic Secretary: Candidate of Sciences (Biology) Galina V. Orlova

Phone: +7(383) 363-49-85 ext. 1336; e-mail: OrlovaGV@icg.sbras.ru, gorlova@bionet.nsc.ru

The Institute was founded in 1957, among the first institutions of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences. Presently, ICG SB RAS is an interdisciplinary biological center, which ranks among the leading biological institutions in Russia. The second step of the restructuring of the Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics was completed in May 2017. Presently, ICG includes three branches:

Siberian Research Institute for Plant Industry and Breeding,
Institute of Clinical and Experimental Lymphology, and
Institution of Internal and Preventive Medicine.

Tasks of ICG SB RAS: Solution of top-priority problems in the development of the Russian science and technology sector in the fields of plant genetics and breeding, animal genetics and breeding, human genetics, biotechnology, and fundamental medicine by applying methods of molecular genetics, cell biology, and computational biology.

Strategic goal: Integrated studies in plant genetics and breeding, animal genetics and breeding, human genetics, fundamental medicine, and biotechnology by applying methods of molecular genetics, cell biology, and computational biology from the generation of academic knowledge to the solution of top priority problems set by Russian agricultural, biotechnological, biomedical, and pharmaceutical industries.

Staff: As on June 1, 2017, ICG included 88 scientific units, which employed 1394 members, of them 513 researchers (187 being aged below 39), 2 RAS Advisors, 8 Full Members of the RAS, 4 Corresponding Members of the RAS, 90 Doctors of Science, and 296 Candidates of Science.

Postgraduate education and residency training: As on June 1, 2017, ICG trains 77 postgraduates and 18 interns.

Publications: The Institute intensely contributes to Russian and foreign journals and ranks among acknowledged leaders in Russian biology. In 2016, 309 papers were enrolled in the international online service Web of Science (WoS). The overall number of publications in peer-reviewed journals exceeds 450. In 2016 papers of the researchers of the Institute received over 4350 WoS citations.

Auxiliaries: Core facility “Center for Genetic Resources of Laboratory Animals”, which includes the unique research unit “SPF vivarium”, and seven shared access centers <http://www.bionet.nsc.ru/uslugi/>.

Assets: Plots of land with a total area of over 30,000 ha, on the right of permanent use; 85,000 m² of work areas located in five districts of the Novosibirsk region.

The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics is looking to cooperate with scientific and commercial enterprises.

Address: Prosp. Akad. Lavrentiev 10, Novosibirsk, 630090 Russia

Phone/fax: +7(383) 363-49-80 / +7(383) 333-12-78

URL: <http://www.bionet.nsc.ru>

e-mail: icg-adm@bionet.nsc.ru

СОДЕРЖАНИЕ / CONTENTS

СЕКЦИЯ «ДОМЕСТИКАЦИЯ И ГЕНЕТИКА ЖИВОТНЫХ» SESSION “DOMESTICATION AND ANIMAL GENETICS”

Репродуктивные ритмы в линиях комнатной мухи с генетически обусловленными различиями в продолжительности жизни <i>Г.В. Беньковская, Л.З. Ахмадишина, Ю.М. Никоноров</i>	22
Анализ факторов материнской наследственности в популяциях <i>Drosophila melanogaster</i> <i>Р.А. Быков, И.О. Мазунин, М.А. Юдина, Ю.Ю. Илинский</i>	23
Пространственная и временная динамика соотношений численности видов малярийных комаров в окрестностях г. Новосибирска <i>О.В. Ваулин, И.К. Захаров</i>	24
Экспрессия генов, связанных с поведением, стрессом и фотопериодизмом, в мозге доместизируемых лисиц <i>Ю.Э. Гербек, М.А. Генаев, Г.В. Васильев, Р.Г. Гулевич, С.Г. Шихевич, Д.В. Шепелева, Д.А. Афонников, Л.Н. Трут</i>	25
Хромосомы и геномы домашних, пушных и промысловых млекопитающих <i>А.С. Графодатский</i>	26
Легкие цепи иммуноглобулинов стерляди <i>Acipenser ruthenus</i> : генерируемое разнообразие и молекулярная эволюция <i>С.В. Гусельников, К.О. Баранов, С.В. Кулемзин, А.И. Макунин, В.А. Трифонов, А.В. Таранин</i>	27
Сравнение мини-свиней селекции ИЦиГ с исходными формами по аллотипическим маркерам сыворотки крови <i>В.И. Ермолаев, М.А. Савина, С.П. Князев, В.И. Запорожец, С.В. Никитин</i>	28
Повышенная мутабельность в линии <i>Drosophila melanogaster</i> 3NS и ее модификация при межлинейных скрещиваниях <i>Ю.А. Коромыслов, О.В. Ваулин, И.К. Захаров</i>	29
Разнообразие и генетические компоненты пассивно-оборонительного поведения по отношению к человеку мини-свиней ИЦиГ СО РАН <i>В.С. Ланкин, С.В. Никитин, О.В. Трапезов</i>	30
Эффекты отбора по поведению на некоторые когнитивные способности лисиц и типологические особенности их нервной деятельности <i>И.А. Мухамедишина, А.В. Харламова, Л.Н. Трут</i>	31
Уникальные окраски мини-свиней селекции ИЦиГ СО РАН <i>С.В. Никитин, С.П. Князев, К.С. Шатохин, М.А. Савина, В.И. Запорожец, В.И. Ермолаев</i>	32
Полногеномный анализ ассоциаций признаков продуктивности у российских пород молочного скота <i>А.В. Плюснина, Н.С. Юдин, Н.М. Белоногова, Д.М. Ларкин</i>	33
Гены и свет: много лет спустя <i>А.О. Рувинский</i>	34
Популяционный скрининг полиморфизма аллотипов Ld-системы липопroteина низкой плотности сыворотки крови норки (<i>Mustela vison</i> – <i>Neovison vison</i>) <i>М.А. Савина, О.В. Трапезов, В.И. Ермолаев</i>	35
Молекулярно-генетическая паспортизация дельфинов <i>Tursiops truncatus ponticus</i> <i>А.А. Сазанов, А.В. Тимофеев, А.В. Попов, Д.О. Виноходов</i>	36
Оценка времени формирования разобщенных ареалов у палеарктических ленточников <i>Limenitis</i> (Lepidoptera: Nymphalidae) <i>В.И. Соловьев, В.В. Дубатов, В.Ю. Вавилова, О.Э. Костерин</i>	37
Эволюционное значение жесткого инбридинга в свете учения Д.К. Беляева о дестабилизирующем отборе <i>В.Н. Стегний</i>	38

Двадцать поколений отбора норок (<i>Neovison vison</i>) по поведению. Каковы последствия? <i>О.В. Трапезов, Л.И. Трапезова</i>	39
Структура популяций, история формирования и следы селекции в геномах местных пород крупного рогатого скота, разводимых в Российской Федерации <i>А.А. Юрченко, Н.С. Юдин, Р.Б. Айтназаров, А.В. Плюснина, Д.М. Ларкин</i>	40
Genetic and ecological consequences of global warming in the populations of malaria mosquitoes in the European part of Russia <i>М.И. Gordeev, A.V. Moskaev</i>	41
On skeletal changes in the course of long-term selection of foxes for behavior <i>A.V. Kharlamova, D.R. Carrier, K. Chase, A.V. Vladimirova, K.G. Lark, L.N. Trut</i>	42
Red fox genome assembly identifies genomic regions associated with tame and aggressive behaviors <i>A.V. Kukekova, J.L. Johnson, X. Xiang, S. Feng, S. Liu, H.M. Rando, A.V. Kharlamova, Yu. Herbeck, N.A. Serdyukova, Z. Xiong, V.R. Beklemisheva, K.-P. Koepfli, R.G. Gulevich, A.V. Vladimirova, D.V. Shepeleva, J.P. Hekman, P.L. Perelman, A.S. Graphodatsky, S.J. O'Brien, X. Wang, A.G. Clark, G.M. Acland, G. Zhang, L.N. Trut</i>	43
Mosaic patterns of craniofacial, dental, and postcranial morphometric change in Russian silver foxes <i>S.D. Maddux, E.K. Wood, T.E. Southard, A.V. Kharlamova, L.N. Trut, R.G. Franciscus</i>	44
On the human nature (following in the steps of D.K. Belyaev) <i>A.L. Markel</i>	45
The expression of GAD2, DRD2, Cacna1b and Oxt genes and their contribution in aggressive behavior <i>E.P. Mazurina, K.A. Tabanyuhov, I.V. Chadaeva, R.V. Kozhemyakina, N.V. Klimova</i>	46
Molecular genetics of the adrenocortical axis and breeding for robustness <i>P. Mormede, E.E. Terenina</i>	47
Morphometrics and evolution: the challenge of crossing rugged phenotypic landscapes with straight paths <i>P.D. Polly</i>	48
High mutation rate in Sakhalin <i>Drosophila melanogaster</i> natural population <i>M.A. Voloshina</i>	49
Examining two developmental hypotheses on the “domestication syndrome” from genomic data <i>A.S. Wilkins</i>	50
Hard tissue patterns of change in Russian silver foxes: the dentition <i>E.K. Wood, S.D. Maddux, T.E. Southard, A.V. Kharlamova, L.N. Trut, R.G. Franciscus</i>	51
Genetic instability in the Sakhalin-2014 <i>Drosophila melanogaster</i> natural population is not the manifestation of P-M hybrid dysgenesis <i>L.P. Zakharenko, M.A. Voloshina</i>	52

СЕКЦИЯ «ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ГЕНЕТИКА И ЭПИГЕНЕТИКА» SESSION “PHYSIOLOGICAL GENETICS AND EPIGENETICS”

Ген субстрата инсулиноподобного рецептора, <i>chico</i> , регулирует метаболизм октопамина у <i>Drosophila melanogaster</i> <i>Н.В. Адоньева, Е.В. Бурдина, И.Ю. Раушенбах, Н.Е. Грунтенко</i>	54
Получение меченного тритием ювенильного гормона и радиометрический анализ уровня его ферментативного гидролиза <i>А.А. Алексеев, И.В. Романова, В.А. Рихтер, Н.Е. Грунтенко, Е.К. Карпова</i>	55
Реорганизация стрессовой и половой функций в ходе селекции на кататонию у крыс <i>Т.А. Алехина, Д.В. Клочков, О.И. Прокудина</i>	56
Применение репродуктивных технологий для сохранения кошачьих <i>ex situ</i> <i>С.Я. Амстиславский, В.И. Мокроусова, В.В. Кожевникова, Е.Ю. Брусенцев, Е.А. Кизилова, Т.О. Абрамова, И.Н. Рожкова, К.А. Окотруб, С.В. Найденко</i>	57

Изучение механизмов развития ожирения в среднем возрасте у мышей <i>Н.М. Бажан, А.В. Бакланов, Ю.В. Пискунова, А.Ю. Казанцева</i>	58
Влияние экспериментальной доместикации серебристо-черных лисиц (<i>Vulpes vulpes</i>) на вокальное поведение <i>С.С. Гоголева, И.А. Володин, Е.В. Володина, А.В. Харламова, Л.Н. Трут</i>	59
Участие инсулинового сигнального пути в нейрогормональной стресс-реакции (на модели <i>Drosophila melanogaster</i>) <i>Н.Е. Грунтенко, И.Ю. Раушенбах</i>	60
Влияние отбора по поведению на морфофункциональные параметры гиппокампа у взрослых серых крыс после ранней социальной нестабильности <i>Р.Г. Гулевич, А.Е. Акулов, С.Г. Шихевич, Р.В. Кожемякина, И.Ф. Плюснина</i>	61
Особенности регуляции натрийуретической функции почки крыс со стресс- индуцируемой гипертензией (линия НИСАГ) <i>А.Д. Дубинина, А.Л. Маркель, Л.Н. Иванова</i>	62
Эффективность гормональной стимуляции самок соболей клеточного содержания разного возраста <i>А.А. Зотова, Е.А. Орлова, Т.М. Чекалова, Л.А. Сулимова</i>	63
Функциональные, эпигенетические и морфологические характеристики развития в неонатальном периоде у крыс линии ОХУС <i>Т.Н. Иголина, Д.С. Рагаева, О.М. Петрова, Ю.Э. Гербек, М.А. Тихонова, И.Н. Рожкова, С.Я. Амтиславский</i>	64
Влияние генотипа на антиоксидантную систему американских норок и лисиц <i>Т.Н. Ильина, И.В. Башиникова, В.А. Илюха</i>	65
Генетически детерминированное агрессивное поведение и нейротрофические факторы мозга <i>Т.В. Ильчибаева, А.С. Цыбко, Р.В. Кожемякина, В.С. Науменко</i>	66
Тирозингидроксилаза мозга при селекции животных по поведению и ее регуляция глюкокортикоидами <i>Т.С. Калинина, Е.В. Сухарева, В.В. Булыгина, Д.А. Ланшаков, Г.Т. Шишкина, Н.Н. Дыгало</i>	67
Основные показатели сперматогенеза у крыс, предрасположенных к проявлению кататонических реакций <i>М.А. Клецев, Т.А. Алехина, Л.В. Осадчук</i>	68
Типы стрессоустойчивости голштинизированных первотёлок и их взаимосвязь с хозяйственно полезными признаками <i>И.И. Клименок, В.Л. Малофеев</i>	69
Исследование транскрипционного профиля гипоталамуса у крыс линии НИСАГ <i>Л.О. Климов, О.Е. Редина, А.Л. Маркель</i>	70
Эффект этанола на поведение и его потребление у ручных и агрессивных серых крыс <i>Р.В. Кожемякина, С.Г. Шихевич, Р.Г. Гулевич</i>	71
Влияние повышенного уровня лептина у беременных мышей на вес плодов и экспрессию генов в плацентах в зависимости от пола плодов <i>А.Е. Кулешова, Е.Н. Макарова</i>	72
Быстрые негеномные эффекты альдостерона в почках крыс и мышей <i>Н.С. Логвиненко, Л.Е. Каткова, Г.С. Батурина, Е.И. Соленов</i>	73
Метаболический ответ на сладко-жирную пищу у мышей, склонных и устойчивых к развитию диетарного ожирения <i>Е.Н. Макарова, А.Д. Гончар</i>	74
Серотониновые рецепторы в механизмах регуляции генетически детерминированной агрессивности <i>В.С. Науменко</i>	75
Метилирование ДНК комнатной мухи <i>Musca domestica</i> L. <i>Ю.М. Никоноров, Т.Т. Ахметкиреева, Г.В. Беньковская</i>	76

Репродуктивная эндокринология серебристо-черных лисиц: эффекты длительной селекции на доместикационное поведение <i>Л.В. Осадчук, Л.Н. Трут</i>	77
Можно ли исследовать генетику интеллектуальных способностей у лабораторной мыши? <i>О.В. Перепелкина, В.А. Голибродо, Н.В. Маркина, А.Ю. Тарасова, И.И. Полетаева</i>	78
Мутация <i>Yellow</i> в локусе агути у мышей подавляет экспрессию генов белков, контролирующих интенсивность окисления свободных жирных кислот в скелетных мышцах, задолго до манифестации ожирения <i>Ю.В. Пискунова, А.В. Бакланов, А.Ю. Казанцева, Н.М. Бажан</i>	79
Доместикация и мозг: сорок лет спустя <i>Н.К. Попова</i>	80
Неонатальные рефлексы и поведение гипертензивных крыс линии НИСАГ <i>Д.С. Рагаева, М.А. Тихонова, О.М. Петрова, Т.Н. Игоница, И.Н. Рожкова, Е.Ю. Брусенцев, Т.Г. Амтиславская, С.Я. Амтиславский</i>	81
Генетический контроль уровня норадреналина в гипоталамусе крыс НИСАГ и сцепленных с ним признаков <i>О.Е. Редина, С.Э. Смоленская, Н.И. Ершов, М.А. Гилинский, Е.В. Антонов, А.Л. Маркель</i>	82
Отсроченные эффекты раннего постнатального стресса на экспрессию генов глюкокортикоидной и глутаматной систем в головном мозге мышей <i>В.В. Решетников, А.А. Студеникина, Ю.А. Рябушкина, Т.И. Меркулова, Н.П. Бондарь</i>	83
Исследование экспрессии генов адренорецепторов и реакция престаимульного ингибирования у крыс с генетической кататонией <i>М.А. Рязанова, О.И. Прокудина, Т.А. Алехина</i>	84
Сравнительный анализ транскриптомов ствола мозга у гипертензивных крыс линии НИСАГ и нормотензивных крыс линии WAG <i>Л.А. Федосеева, В.М. Ефимов, А.Л. Маркель, О.Е. Редина</i>	85
Эффект высокоселективных агонистов 5-НТ _{2А} рецепторов на экспрессию нейротрофических факторов в мозге мышей <i>А.С. Цыбко, Т.В. Ильчибаева, Е.А. Филимонова, В.С. Науменко</i>	86
Характеристики врожденного поведения линий крыс, селектированных по возбудимости нервной системы к действию электрического тока <i>Н.В. Ширяева, М.Б. Павлова, А.И. Вайдо</i>	87
Влияние межсамцовых конфронтаций на уровни кортикостерона и тестостерона в крови у крыс, селектируемых по поведению <i>С.Г. Шихевич, М.Ю. Коношенко, Р.В. Кожемякина, Р.Г. Гулевич</i>	88
Молекулярные механизмы половых различий чувствительности к инсулину у мышей <i>Т.В. Яковлева</i>	89
Early life stress promotes the changes in whole-genome distribution of H3K4me3 in prefrontal cortex of adult mice <i>N.P. Bondar, N.I. Ershov, A.A. Lepeshko, V.V. Reshetnikov, Yu.A. Ryabushkina, T.I. Merkulova</i>	90
Immediate and enduring effects of brief repeated maternal separation and histone deacetylase inhibition in mice <i>O.V. Burenkova, E.A. Aleksandrova, I.Yu. Zarayskaya</i>	91
The insulin-like receptor gene expression in tissues synthesizing gonadotropic hormones at <i>Drosophila melanogaster</i> female sexual maturation <i>M.A. Eremina, O.V. Andreenkova, N.V. Adonyeva, N.E. Gruntenko, I.Yu. Rauschenbach</i>	92
The advantages of non-invasive techniques for investigation of physiological parameters in laboratory animals <i>A.A. Seryapina, O.B. Shevelev</i>	93
Arguments on the origin of the vertebrate liver and the amphioxus hepatic diverticulum: a hypothesis on evolutionary novelties <i>V.M. Subbotin</i>	94

СЕКЦИЯ «МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА И КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ» SESSION “MOLECULAR GENETICS AND CELL BIOLOGY”

Молекулярно-цитологическая характеристика ряда индуцибельных систем на основе GAL4/UAS для анализа функций мозга <i>Drosophila melanogaster</i> Е.Н. Андреева, А.А. Огиенко, А.Л. Алексеева, А.В. Пиндюрин	96
Поиск матерински наследуемых бактерий у представителей семейства Chironomidae (Insecta: Diptera) Голарктики А.Д. Брошков, М.А. Юдина, М.А. Данилова, Л.И. Гундерина, Ю.Ю. Илинский	97
Изучение функций опухолевого супрессора <i>hyd</i> в клетках зародышевой линии <i>D. melanogaster</i> Ю.А. Галимова, Н.В. Дорогова, С.А. Фёдорова.....	98
Дифференцировка индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека в нейроны стриатума для создания модели <i>in vitro</i> болезни Хантингтона Е.В. Григорьева, А. Сурумбаева, Т.Б. Маланханова, С.В. Павлова, Л.А. Сульдина, С.М. Закиян...	99
Дупликация генома в эволюции животных К.С. Задесенец, Н.Б. Рубцов.....	100
Мультилокусное генотипирование изолятов симбиотической бактерии <i>Wolbachia</i> , выявленных у представителей Siphonaptera Ю.Ю. Илинский, М.А. Юдина.....	101
Функциональная роль эндоплазматического ретикулума в организации растущей ядерной оболочки Е.В. Киселева	102
Метод полногеномного анализа эффекта положения гена в культивируемых клетках <i>Drosophila</i> М.О. Лебедев, Л.А. Яринич, А.В. Пиндюрин	103
Получение линии эмбриональных стволовых клеток мыши с маркированной GFP экспрессией бета-тубулина класса 3 А.Г. Мензоров, К.Е. Орищенко, А.А. Шевцова, Е.А. Кизилова, А.Н. Голубица, А.И. Железова, Н.М. Матвеева, Н.Р. Баттулин, Н.Б. Рубцов, О.Л. Серов	104
Способы регуляции длины теломер в клетках млекопитающих Ю.М. Минина, Н.С. Жданова.....	105
Электронно-микроскопический анализ ультраструктурной реорганизации клеток с делециями и встройками в ген Хантингтона К.Н. Морозова, Л.А. Сульдина, Т.Б. Маланханова, А.А. Малахова, С.М. Закиян, Е.В. Киселева	106
Участие компонентов комплекса NSL в делении культивируемых клеток <i>Drosophila</i> Ю.В. Попова, Г.А. Павлова, А.В. Разуваева, Т.А. Невзорова, А.В. Пиндюрин, М. Гамти	107
Исследование эффектов активации фактора, индуцируемого гипоксией, на ангиогенный потенциал эндотелиальных производных плюрипотентных стволовых клеток человека А.М. Смирнова, М.К. Живень, И.С. Захарова, А.И. Шевченко, Е.А. Елисафенко, С.М. Закиян.....	108
Влияние производных 2Н-бензимидазол-1,3-диоксидов на пролиферацию клеток <i>D. melanogaster</i> С.А. Фёдорова, Ю.А. Тен, С.Ю. Грищенко, Д.Г. Мажукин, В.А. Самсонов.....	109
Мутации гена <i>Trl</i> , кодирующего GAGA-фактор дрозофилы, вызывают преждевременную миграцию клеток зародышевого пути А.С. Хрущева, Н.В. Дорогова, Э.М. Баричева.....	110
Симбиотические ассоциации <i>Wolbachia</i> -Hymenoptera: инфицированность и филогенетический анализ изолятов бактерий М.А. Юдина, Ю.Н. Данилов, К.А. Белова, А.Е. Костюнин, Ю.Ю. Илинский	111
Genetic variation of haemosporidian parasites of songbirds, passeriformes in Beydaglari, Turkey T. Albayrak, T. Tuncel	112

Revealing of the chromosome syntenic regions between sterlet (<i>Acipenser ruthenus</i>) and spotted gar (<i>Lepisosteus oculatus</i>) D.A. Andreyushkova, A.I. Makunin, V.R. Beklemisheva, S.A. Romanenko, A.S. Druzhkova, A.I. Kulemzina, L.S. Biltueva, N.A. Serdyukova, A.S. Graphodatsky, V.A. Trifonov	113
Transcriptome-wide effects of inactivation and prionization of Swi1 protein in yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i> K.S. Antonets, S.F. Kliver, D.E. Polev, E.A. Andreeva, A.R. Shuvalova, S.G. Inge-Vechtomo, A.A. Nizhnikov	114
Evidence for involvement of amyloidogenesis in the virulence of enterotoxigenic <i>Escherichia coli</i> M.V. Belousov, S.A. Bondarev, A.O. Kosolapova, K.S. Antonets, G.A. Zhouravleva, A.A. Nizhnikov	115
The approach for reconstruction of amyloid structure <i>in vivo</i> S.A. Bondarev, O.I. Poleshuk, G.A. Zhouravleva, A.V. Kajava	116
Aneuploidy can underlie a reversible phenotypic switch, or what to be aware of if studying unusual traits (in <i>Saccharomyces cerevisiae</i>) P.B. Drozdova, G.A. Zhouravleva	117
A point deletion shortly downstream of eGFP reporter 3' UTR increases level of the reporter expression in mouse and human cells A.V. Ivankin, L.V. Boldyreva, L.A. Yarinich, E.N. Kozhevnikova, M.O. Lebedev, L.I. Lebedeva, A.V. Pindyurin	118
RNA-templated DNA double-strand break repair: role of Rad52 O.M. Mazina, H. Keskin, K. Hanamshet, F. Storici, A.V. Mazin	119
Conditional prions in yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i> A.A. Nizhnikov, K.S. Antonets	120
Analysis of chicken chromatin structure using Hi-C data M.A. Nuriddinov, V.S. Fishman, N.R. Battulin, A.V. Maslova, O.L. Serov, A.V. Krasikova	121
Slbo-Gal4 driver in the line #6458: a cautionary note on its use for studying <i>Drosophila</i> oogenesis A.A. Ogienko, L.A. Yarinich, E.V. Fedorova, M.O. Lebedev, A.V. Pindyurin, E.M. Baricheva	122
Targeted and panoramic views on the human chromosome 18 transcriptome and proteome E.A. Ponomarenko, E.V. Ilgisonis, E.V. Poverennaya, A.T. Kopylov, V.G. Zgoda, S.P. Radko, Ya. Yu. Kiseleva, A.V. Lisitsa, A.I. Archakov	123
Xist gene and chromatin modification during imprinted X chromosome inactivation in vole <i>M. levis</i> A.I. Shevchenko, E.V. Grigor'eva, I.S. Zakharova, S.M. Zakian	124
Parasites of <i>Nosema</i> , <i>Crithidia</i> and <i>Apicystis</i> genera in the natural Siberian bumblebee populations V. Vavilova, I. Konopatskaia, N. Ereemeeva, A. Blinov	125
Generation of <i>Drosophila</i> cultured stable cell lines using piggyBac transposon system L.A. Yarinich, M.O. Lebedev, T.D. Dubatolova, E.N. Andreyeva, A.V. Pindyurin	126
Nonsense mutations in the essential SUP35 gene and Sup35p prionization G.A. Zhouravleva, N.P. Trubitsina, O.M. Zemlyanko, E.M. Maksiutenko, S.A. Bondarev	127

СЕКЦИЯ «МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА. ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА. БИОМЕДИЦИНА» SESSION "MEDICAL GENETICS. HUMAN GENETICS. BIOMEDICINE"

Чувствительность к гепатоканцерогенезу у мышей ассоциирована с экспрессией мРНК ядерных рецепторов Car, Pparg и их генов-мишеней H.B. Багинская, Е.В. Кашина, М.Ю. Шаманина, С.И. Ильницкая, В.А. Мордвинов	129
Вклад полиморфизма генов репарации ДНК в цитогенетическую нестабильность лимфоцитов у больных раком легкого М.Л. Баканова, В.И. Минина, А.А. Тимофеева, Т.А. Головина, Я.А. Савченко, А.В. Рыжкова, Р.А. Титов, М.А. Асанов, В.А. Титов, И.А. Вафин	130

Невирусные белковые иммуногены на основе Fn3 домена в качестве индукторов антиидиотипических антител <i>К.О. Баранов, О.Ю. Волкова, Л.В. Мечетина, А.А. Горчаков, Д.С. Черникова, С.В. Гусельников, А.М. Наякишин, А.В. Таранин</i>	131
Эпигенетические механизмы регуляции генов, связанных с болезнью Альцгеймера <i>Н.Д. Беляев</i>	132
Свободно-циркулирующая микроРНК miR-155-5p как биомаркер рака легкого <i>Р.И. Берсимбаев, О.В. Булгакова, А.А. Кусаинова</i>	133
Комбинированные эффекты полиморфизма глутатион-S-трансферазы M1 и T1 на риск развития рака легкого в казахской популяции <i>О.В. Булгакова, А.А. Кусаинова, Р.И. Берсимбаев</i>	134
Роль мутаций в гене <i>FLG</i> в развитии аллергодерматозов <i>Г.Ф. Гималова, А.С. Карунас, Э.Р. Гуменная, Э.Ф. Хантимерова, Ш.З. Загидуллин, Э.К. Хуснутдинова</i>	135
Поиск полиморфизмов, потенциально ассоциированных с дисфункцией митохондрий у преждевременно стареющих крыс OXYS <i>В.А. Десяткин, Н.А. Муралёва, Н.Г. Колосова</i>	136
Эффект основателя в распространенности наследственной глухоты, обусловленной мутациями гена <i>GJB2</i> , в популяциях Сибири <i>М.В. Зыцарь, М.С. Бады-Хоо, В.Ю. Данильченко, А.А. Бондарь, И.В. Морозов, Н.А. Барашков, О.Л. Посух</i>	137
Исследование ассоциации однонуклеотидных вариантов генов <i>PARVB</i> , <i>PDCD6IP</i> , <i>SAMK2B</i> , <i>HDAC9</i> , <i>GACAT3</i> с внезапной сердечной смертью <i>А.А. Иванова, В.Н. Максимов, С.К. Малютина, С.В. Савченко, В.П. Новоселов, М.И. Воевода</i> ...	138
Следы естественного отбора в гене холодового рецептора <i>TRPM8</i> человека <i>А.В. Игошин, К.В. Гунбин, Т.А. Потапова, А.Г. Ромащенко, Н.С. Юдин, М.И. Воевода</i>	139
Исследование профилей экспрессии генов-супрессоров опухолевого роста <i>VHL</i> и <i>RASSF1</i> у пациентов со светлоклеточным раком почки <i>Е.А. Климентова, И.Р. Гилязова, И.М. Султанов, В.Н. Павлов, Э.К. Хуснутдинова</i>	140
Генетические предикторы ишемического инсульта в Западно-Сибирском регионе <i>Е.В. Ковалева, В.В. Морозов, Б.М. Доронин, Ю.В. Серяпина, С.Г. Маркова</i>	141
Исследование изменений провоспалительных белков плазмы крови у пациентов с диагнозом ревматоидного артрита <i>Д.И. Козлова, А.В. Попов</i>	142
Геномный уровень регуляции в формировании терморегуляторных и иммунных реакций при действии холода на организм <i>Т.В. Козырева</i>	143
Исследование ассоциации полиморфизма C-889T гена <i>IL-1α</i> с риском развития трубно-перитонеального бесплодия <i>А.В. Лапшатаева, И.В. Сычев</i>	144
Частоты гаплотипов гена <i>HFE</i> среди пациентов с разными формами клещевого энцефалита <i>С.В. Михайлова, А.В. Бархаиш, И.В. Козлова, И.А. Борищук, М.И. Воевода</i>	145
Иммуногенетические взаимодействия двух и более генотипов при беременности млекопитающих <i>М.П. Мошкин, Л.А. Герлинская, Н.А. Феофанова, Ю.М. Мошкин</i>	146
Биологические основы демографической безопасности: значение мужского репродуктивного потенциала <i>А.В. Осадчук</i>	147
Мишени для патогенной формы хантингтина в белок-белковых сетях дендритных шипиков гиппокампа <i>А.Л. Проскура, Т.А. Запара, А.С. Ратушняк</i>	148

Изменение нейротрофического обеспечения мозга при развитии признаков болезни Альцгеймера у крыс ОХYS <i>Е.А. Рудницкая, Н.А. Стефанова, Н.Г. Колосова</i>	149
Генетические критерии диагностики высокого риска развития варикозной болезни <i>Ю.В. Серяпина, А.И. Шевела, В.В. Морозов</i>	150
Роль генов матриксных металлопротеиназ в развитии интракраниальных аневризм <i>Р.И. Султанова, Р.И. Хусаинова, Э.К. Хуснутдинова</i>	151
Полиморфизм генов <i>GSTM1</i> и <i>GSTT1</i> в популяциях бурят, телеутов и у русских Восточной Сибири <i>Л.Э. Табиханова, Л.П. Осипова, Т.В. Чуркина, Е.Н. Воронина, М.Л. Филипенко</i>	152
Полиморфизм генов <i>CYP2C9</i> , <i>CYP2D6</i> , <i>GSTM1</i> , <i>GSTT1</i> , <i>FV</i> и <i>FII</i> у русских жителей северной Сибири <i>Р.П. Тийс, Л.П. Осипова, Е.Н. Воронина, М.Л. Филипенко</i>	153
Анализ связи развития признаков болезни Альцгеймера у крыс ОХYS с дисфункцией митохондрий <i>М.А. Тюменцев, Н.А. Муралева, Н.А. Стефанова</i>	154
Полиморфизм генов-кандидатов формирования алкогольной зависимости в популяциях коренных этносов и русских Сибири <i>М.Р. Хантемирова, Л.П. Осипова, Е.Н. Воронина, М.Л. Филипенко, В.С. Науменко, Д.В. Базовкина</i>	155
Регрессия карциносаркомы Walker 256 у крыс сопровождается изменением состава ламинина <i>И.И. Хегай</i>	156
Биспецифические аналоги антител на основе Fn3 домена для адресной терапии рака простаты <i>Н.А. Чикаев, С.В. Гусельников, К.О. Баранов, Л.В. Мечетина, А.М. Наякишин, О.Ю. Волкова, А.В. Таранин</i>	157
Транскриптомный профиль стабильной атеросклеротической бляшки <i>Е.В. Шахтинеидер, Д.Е. Иваношук, Ю.И. Рагино, Я.В. Полонская, А.М. Чернявский, М.И. Воевода</i>	158
Экспрессия некодирующих РНК – новый подход для диагностики, прогноза, профилактики и лечения патологий человека <i>Л.В. Шулепина, В.Ф. Михайлов, И.М. Васильева, Г.Д. Засухина, Д.В. Салеева</i>	159
Виротерапия злокачественной глиобластомы человека U87 на модели ортотопической ксенотрансплантации мышам линии SCID <i>С.Н. Щелкунов, И.А. Разумов, И.В. Колосова, А.В. Ромащенко, Е.Л. Завьялов</i>	160
Development and characterization of microsatellite markers for trematoda <i>Opisthorchis felineus</i> , opisthorchiasis causing agent <i>A.V. Katokhin, I.V. Saltykova, T.P. Velavan</i>	161
Molecular genetic investigations of personality traits and psychopathologies <i>E.K. Khusnutdinova, A.V. Kazantseva, R.F. Kanzaifarova</i>	162
Novel approach to functional SNPs discovery from genome-wide data reveals promising variants for colon cancer risk <i>E.E. Korbolina, I.I. Brusentsov, L.O. Bryzgalov, E.Yu. Leberfarb, A.O. Degtyareva, T.I. Merkulova</i>	163
Cell death pathways and age-related alterations of the retinal pigment epithelium and of glia in the retina of ОХYS rats during the development of retinopathy <i>D.V. Telegina, A.Z. Fursova, N.G. Kolosova, O.S. Kozhevnikova</i>	164
Evaluating the neuroprotective potential of wheat grain with high antocyanin content in correction of behavioral deficits induced by amyloid-beta neurotoxicity in mice <i>M.V. Tendinik, M.A. Tikhonova, K.S. Pavlov, T.G. Amstislavskaya, E.K. Khlestkina</i>	165

Translational research of <i>Mycobacterium tuberculosis</i> infection levels in alveolar macrophages isolated from patients with pulmonary tuberculosis <i>E.G. Ufimtseva, N.I. Ereemeeva, M.A. Kravchenko, D.V. Vakhrusheva, S.N. Skornyakov</i>	166
Theoretical analysis of the network integrating human genes involved in response to tick-borne encephalitis virus infection <i>N.S. Yudin, A.V. Igoshin, E.V. Ignatieva</i>	167
СЕКЦИЯ «БИОИНФОРМАТИКА» SESSION “BIOINFORMATICS”	
Анализ генетического контроля и физиологической роли опущения листа пшеницы на основе высокопроизводительного фенотипирования <i>Д.А. Афонников, А.В. Дорошков, М.А. Генаев, А.В. Симонов, О.Б. Добровольская, С.В. Осипова, А. Бёрнер, Т.А. Пишеничникова</i>	169
Эволюционно устойчивые стереотипы поведения интеллектуальных агентов при условии неполноты знаний в модели фуражирования <i>В.А. Донских, Н.С. Столбов, И.И. Титов</i>	170
Исследование роли эпигенетических характеристик хроматина и особенностей нуклеотидного контекста в районе связывания транскрипционного фактора EIN3 в регуляции первичного ответа на этилен у <i>Arabidopsis thaliana</i> <i>Е.В. Землянская, В.Г. Левицкий, Д.Ю. Оценок</i>	171
Математическая модель самоорганизации потоков ауксина в корне <i>Ф.В. Казанцев, В.В. Миронова</i>	172
Пространственная гетерогенность способствует локальному поддержанию антагонистических эволюционных сценариев в моделях микробных сообществ <i>А.И. Клименко, Ю.Г. Матушкин, С.А. Лашин</i>	173
Достижение пика приспособленности при сложных ландшафтах в микробных сообществах в различных экологических условиях: результаты компьютерного моделирования <i>С.А. Лашин, З.С. Мустафин, Ю.Г. Матушкин, Д.А. Афонников</i>	174
Тип хроматина влияет на нуклеосомную организацию ДНК в районе старта транскрипции <i>В.Г. Левицкий, Ю.М. Мошкин</i>	175
Фаговая инфекция замедляет видообразование, вызванное горизонтальным переносом и потерей генов метаболизма в моделях пространственно гетерогенных микробных сообществ <i>Ю.Г. Матушкин, А.И. Клименко, Н.А. Колчанов, С.А. Лашин</i>	176
Orthoscape: Cytoscape приложение для анализа эволюционных характеристик генных сетей <i>З.С. Мустафин, Д.А. Афонников, К.В. Гунбин, Ю.Г. Матушкин, С.А. Лашин</i>	177
Кандидатные SNP-маркеры ТАТА-боксов промоторов генов человека для репродуктивного потенциала <i>М.П. Пономаренко, И.В. Чадаева, Д.А. Рассказов, Е.Б. Шарыпова, И.А. Драчкова, Е.В. Кашина, Л.К. Савинкова, П.М. Пономаренко, Л.В. Осадчук, А.В. Осадчук</i>	178
Механизмы устойчивости пшеницы к патогенным грибам <i>О.Г. Смирнова, А.В. Кочетов</i>	179
Сложная динамика локальной трансляции в синапсе: математическая модель <i>Е.А. Трифонова, Т.М. Хлебодарова, В.В. Козай, В.А. Лихошвай</i>	180
Молекулярная эволюция белков семейства YUCCA <i>И.И. Турнаев, В.В. Суслов, К.В. Гунбин, Д.А. Афонников</i>	181
Alternative splicing, isoforms and role of Grin1 gene expression in behavior of rats selected by aggressive behavior <i>V.N. Babenko, I.V. Chadaeva, A.O. Bragin, Y.L. Orlov, A.L. Markel</i>	182

Software for visualization and analysis of chromosome-specific DNA sequences for fish diagnostics <i>A.G. Bogomolov, A.M. Spitsina, N.L. Podkolodnyy, N.B. Rubtsov</i>	183
The approach for reconstruction of amyloid structure <i>in vivo</i> <i>S.A. Bondarev, O.I. Poleshuk, G.A. Zhouravleva, A.V. Kajava</i>	184
Computer analysis of association of serotonin and dopamine with aggression and tameness in rat <i>A.O. Bragin, A.L. Markel, Y.L. Orlov</i>	185
Gene expression analysis of Egr1, Gria2, Mapk1, by qPCR in brain areas of rats selected by aggressive behavior <i>I.V. Chadaeva, N.V. Klimova, A.L. Markel, G.V. Vasiliev</i>	186
Program tools for analysis of high-throughput genome sequencing data <i>A.I. Dergilev, A.V. Tsukanov, A.I. Efimov, A.O. Bragin, F.M. Naumenko, Y.L. Orlov</i>	187
Ranking genes associated with elevated body mass using protein-protein interaction network uniting genes revealed by genome-wide association studies <i>E.V. Ignatieva</i>	188
Analysis of gene expression variation in schizophrenia: a structural equation approach <i>A.A. Igolkina, S.V. Nuzhdin, M.G. Samsonova</i>	189
Molecular evolution analysis of genetic network related to plant trichome development <i>D.K. Konstantinov, A.V. Doroshkov, D.A. Afonnikov</i>	190
Systems forensics: systems biology and the inference of crime <i>J.G. ('Anneke') Koster</i>	191
Transcriptome analysis of brain areas in laboratory animals selected by aggressive behavior <i>Y.L. Orlov, A.O. Bragin, V.N. Babenko, R.V. Kozhemyakina, A.L. Markel</i>	192
Reconstruction of associative gene network related to aggressive behavior in rats using transcriptome data <i>O.V. Petrovskaya, I.V. Chadaeva, O.V. Saik, A.O. Bragin, E.S. Tiys</i>	193
Designing the emergence of progressive (PROP) and regressive (REP) preconditioning responses: from intelligent intracellular networks to the domestication of animals <i>N. Sahin, H.V. Westerhoff, A. Kolodkin</i>	194
Evolutionary history of the malaria mosquitoes from maculipennis group in Eurasia <i>M.V. Sharakhova, A.A. Yurchenko, A.N. Naumenko, G.N. Artemov, V.N. Stegnyy, I.V. Sharakhov</i>	195
Splice variants microarray design pipeline <i>L.A. Solntsev, O.V. Utkin, D.I. Knyazev, V.D. Tsvetkova, E.N. Filatova, N.A. Sakharov</i>	196
The role of Gabrd, Nos1, Syn1 and Pomc genes in behavior and their expression in rat brain areas by RT-PCR <i>K.A. Tabanyuhov, E.P. Mazurina, N.I. Krivosheina, R.V. Kozhemyakina, N.V. Klimova, I.V. Chadaeva</i>	197
Comparing miRNA structure of mirtrons and non-mirtrons <i>I.I. Titov, P.S. Vorozheykin</i>	198
Principles of systems biology and Dmitri Belyaev's co-selection of traits <i>H.V. Westerhoff</i>	199
 СЕКЦИЯ «ГЕНЕТИКА РАСТЕНИЙ» SESSION "PLANT GENETICS"	
Постановка метода геномного редактирования для сибирских сортов ярового ячменя <i>С.В. Герасимова, А.М. Короткова, Е.К. Хлесткина</i>	201
Анализ транскрипционной регуляции промотора гена орнитинаминотрансферазы <i>Arabidopsis thaliana</i> <i>А.А. Егорова, В.В. Горелова, С.В. Герасимова</i>	202

Трансгенные растения картофеля, несущие ген экстраклеточной рибонуклеазы циннии (ZRNaseII), как модель для изучения генетического контроля устойчивости к фитопатогенам <i>С.М. Ибрагимова, Е.А. Трифонова, Е.А. Филипенко, А.В. Кочетов</i>	203
Наследование, локализация и функциональные свойства быстромигрирующего варианта ароматической алкогольдегидрогеназы НАДФ-CAD1F у гексаплоидных пшениц <i>А.А. Коновалов, И.К. Шундрин, Е.В. Карпова, С.Р. Туманян, А.Е. Кузнецова, Е.Я. Кондратенко, Н.П. Гончаров</i>	204
Импорт ДНК и нестабильность митохондриального генома высших растений: эволюционно-генетические и прикладные аспекты <i>Ю.М. Константинов, М.В. Кулинченко, Е.С. Клименко, Т.А. Болотова, В.И. Тарасенко, В.Н. Шамаков, В.И. Бельков, В.В. Черникова, Ф. Вебер-Лотфи, А. Дмитриш</i>	205
Межклеточная миграция ядер в мужском мейозе высших растений: причины и последствия <i>С.Р. Мурсаимов, Ю.В. Сидорчук, А.А. Загорская, Е.В. Дейнеко</i>	206
Биотехнологические подходы к созданию новых генотипов и ускорению селекционного процесса мягкой пшеницы <i>Л.А. Перишина, Л.И. Белова, Л.А. Кравцова, Т.С. Осадчая, Н.В. Трубачева, В.К. Шумный, И.А. Белан, Л.П. Россеева, В.В. Немченко</i>	207
Результаты и перспективы использования различных методов селекции для создания новых форм гибридной пшеницы <i>Е.П. Размахнин, Т.М. Размахнина, Н.И. Степochкина, В.Е. Козлов, И.Е. Лухенко, Г.Ю. Галицын</i>	208
Изучение влияния физиологически активных веществ на процесс морфогенеза в культуре пыльников пырея и продуктивность пшеницы <i>Т.М. Размахнина, Е.П. Размахнин</i>	209
Анионная пероксидаза в защитных реакциях картофеля против биотических воздействий <i>А.В. Сорокань, Д.К. Благова, Г.В. Беньковская, И.В. Максимов</i>	210
Идентификация и анализ генов семейства MYC пшенициевых <i>К.В. Стрыгина, Е.К. Хлесткина</i>	211
Screening of bread wheat accessions of Azerbaijan using KASP markers <i>M.A. Abbasov</i>	212
Genes for wheat inflorescence architecture: structure, function and evolution <i>O.B. Dobrovolskaya, P. Martinek, M.P. Ponomarenko, A.F. Muterko, Y. Amagai, A.A. Krasnikov, E.D. Badaeva, K.I. Popova, Y.L. Orlov, J. Salse, N. Watanabe</i>	213
Characterization of the centromeric histone H3 (CENH3) in genus <i>Secale</i> and its phylogenetic relationships <i>E.V. Evushenko, E.A. Elisafenko, S.S. Gatzkaya, Y.A. Lipikhina, A. Houben, A.V. Vershinin</i>	214
Organization and evolution chalcone synthase gene family in bread wheat and relative species <i>A. Glagoleva, E. Khlestkina</i>	215
WRKY33 is involved in plant responses to elevated salt concentration and water deficit <i>H.R. Jafarov, K.G. Gasimov</i>	216
CRISPR/Cas for plant domestication and breeding <i>E.K. Khlestkina, A.M. Korotkova, S.V. Gerasimova, K.A. Ivanova, A.V. Kochetov, V.K. Shumny</i>	217
Features of <i>Ppd-B1</i> expression regulation and their impact on the flowering time of wheat near-isogenic lines <i>A.A. Kiseleva, E.A. Salina</i>	218
Life history plasticity in large winter cereal group and sharp increasing of winterhardiness of flexible ("winter-spring") plants <i>V.E. Kozlov</i>	219
The role of meristem regulators in the formation of economically valuable traits in plants <i>L.A. Lutova, I.E. Dodueva, M. Azarakhsh, M.S. Gancheva</i>	220

The novel wheat vernalization response allele <i>Vrn-A1j</i> contains the most known types of mutations in <i>VRN-A1</i> <i>A.F. Muterko, E.A. Salina</i>	221
New insight on 5B wheat chromosome evolution based on interspecies physical and genetic mapping <i>E.A. Salina, E.M. Sergeeva, M.A. Nesterov, A. Kiseleva, Z. Frenkel, A. Korol, A.F. Muterko, IWGSC</i>	222
Evolution of <i>VRN-1</i> homoeologous loci in allopolyploids of <i>Triticum</i> and their diploid precursors <i>A.B. Shcherban, A.A. Schischkina, K.V. Strygina, E.A. Salina</i>	223
Different evolutionary patterns of the universal flavonoid biosynthesis pathway genes in monocot and dicot plant species <i>O.Yu. Shoeva, A.Yu. Glagoleva, E.K. Khlestkina</i>	224

САТЕЛЛИТНЫЙ СИМПОЗИУМ «МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПАТОГЕНЕЗА ГЛАУКОМЫ» **SATELLITE SYMPOSIUM “MOLECULAR GENETIC MECHANISMS OF THE PATHOGENESIS OF GLAUCOMA”**

Раскрытие общих механизмов агрегации мутантов белка SOD1 с помощью эластичного сетевого моделирования <i>Н.А. Алемасов, В.А. Иванисенко</i>	226
Анализ ассоциации однонуклеотидных полиморфизмов rs1048661, rs2165241, rs3825942 гена <i>LOXL1</i> с различными типами глаукомы у пациентов Западной Сибири <i>Д.Е. Иваноуцук, Е.О. Датских, С.В. Михайлова, А.Ж. Фурсова, Н.А. Коновалова, И.Ю. Бычков, О.С. Коновалова, М.И. Воевода, А.Г. Ромащенко</i>	227
Поиск генов, ответственных за коморбидность первичной открытоугольной глаукомы и диабетической ретинопатии, с помощью структурного анализа генных сетей <i>Е.С. Туйс, О.В. Сайк, В.А. Иванисенко</i>	228
ANDSystem: a tool for automated literature mining in the area of biology and biomedicine <i>V.A. Ivanisenko, O.V. Saik, E.S. Tiys, T.V. Ivanisenko, P.S. Demenkov</i>	229
Reconstruction of gene networks associated with primary open-angle glaucoma by ANDSystem <i>O.V. Saik, P.S. Demenkov, O.S. Konovalova, N.A. Konovalova, N.A. Kolchanov, I.N. Lavrik, V.A. Ivanisenko</i>	230

САТЕЛЛИТНЫЙ СИМПОЗИУМ «БИОМЕДИЦИНА В НЕЙРОБИОЛОГИИ: СИМПТОМЫ, ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ» **SATELLITE SYMPOSIUM “BIOMEDICINE IN NEUROSCIENCE: SYMPTOMS, DIAGNOSIS, AND TREATMENT”**

Effects of ceftriaxone on cognitive and neuromolecular disturbances in mouse genetic model of Parkinson's disease <i>T.G. Amstislavskaya, V.M. Belichenko, L.A. Fedoseeva, A.S. Ryzhkova, Y.J. Ho, M.A. Tikhonova</i>	232
Treatment for Parkinson's disease with an old medicine: data of animal and human <i>A.C. Chen, C.T. Tai, J.C. Weng, P.F. Kao, C.Y. Shen, W.H. Wang, C.C. Kuo, M.A. Tikhonova, T.G. Amstislavskaya, Y.J. Ho</i>	233
History-based computerized diagnostic system for the clinical assessment of dementia <i>P.Y. Chiu</i>	234
6-day combined partial wake and light therapy for depression <i>K.V. Danilenko, M.Y. Lebedinskaia, E.V. Gadetskaia, A.A. Beklemisheva, E.D. Nikolenko, L.I. Aftanas</i>	235
Detecting neuronal activity in rat model of dementia with Lewy bodies by using MEMRI <i>Y.-J. Ho, M.-S. Lin, J.-C. Weng</i>	236

The clinical use of ^{99m} Tc-TRODAT-1 imaging in Parkinson disease: a molecular imaging agent development experience in Taiwan <i>P.F. Kao, J.H. Weng, Y.J. Ho</i>	237
Depression and resting state networks <i>G.G. Knyazev, A.N. Savostyanov, A.V. Bocharov</i>	238
Possibilities and limitations of autophagy modulation in correction of neurodegeneration <i>T.A. Korolenko, A.B. Pupyshev, A.A. Akopyan, M.A. Tikhonova</i>	239
Dysregulation of insulin signaling plays an important role in dementia with Lewy bodies (DLB) <i>T.-J. Lai, C.-L. Lin, H.-H. Li, P.-Y. Chiu, Y.-J. Ho</i>	240
Overexpression of Nanog attenuates A β -induced neurotoxicity through insulin signaling <i>H.-H. Li, F.-J. Lu, P.-Y. Chiu, Y.-J. Ho, T.-J. Lai, C.-L. Lin</i>	241
Co-expression of Oct4, Sox2, Klf4 and Nanog (KOSN) transcription factors protects against amyloid β -induced neurotoxicity by improving insulin signaling sensitivity <i>C.-L. Lin, H.-H. Li, H.G. Kim, C.-C. Chang, P.-Y. Chiu, Y.-J. Ho, T.-J. Lai</i>	242
Age-dependent effects of lipocalin-2 (LCN2) on cognitive performance in mice <i>T.V. Lipina, T. Berger, T.W. Mak, J.C. Roder, L.I. Aftanas</i>	243
Hesperidin protects rats from A β -induced neurotoxicity by the reduction of lipid peroxidation, and expression of heme oxygenase and iNOS <i>K.T. Lu, P.Y.Y. Wo, H.Y. Liu, Y.L. Yang</i>	244
An innovative strategy to rescue the hippocampal bioenergetics in a rat model of Parkinson's disease: utilizing plasmon-activated water as a natural approach <i>T.-Y. Renn, L.-Y. Chen, Y.-C. Liu, F.-D. Mai, Y.-J. Ho, H.-M. Chang</i>	245
Modulation of the gene expression levels of proteins involved into the metabolism of amyloid-beta in the brain for neuroprotection <i>M.A. Tikhonova, V.M. Belichenko, L.A. Fedoseeva, N.D. Belyaev, T.G. Amstislavskaya</i>	246
Social functioning in patients with temporal lobe epilepsy <i>W.-H. Wang, M.-S. Hua</i>	247
Effects of glycine and D-cycloserine on <i>in vivo</i> neuronal activity in normal and schizophrenia model mice <i>L. Yao, J. Ju, Q. Zhou</i>	248
АВТОРСКИЙ УКАЗАТЕЛЬ / AUTHOR INDEX	249

Секция

ДОМЕСТИКАЦИЯ И ГЕНЕТИКА ЖИВОТНЫХ

Session

DOMESTICATION AND ANIMAL GENETICS

РЕПРОДУКТИВНЫЕ РИТМЫ В ЛИНИЯХ КОМНАТНОЙ МУХИ С ГЕНЕТИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННЫМИ РАЗЛИЧИЯМИ В ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ

Г.В. Беньковская*, Л.З. Ахмадишина, Ю.М. Никоноров

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

*e-mail: bengal2@yandex.ru

Ключевые слова: биоритмы, репродукция, комнатная муха, селекция, продолжительность жизни

Мотивация и цели: Удобной моделью в исследованиях биоритмов являются насекомые, для которых уже обнаружено участие циркадианной системы в регуляции титра экидистероидов (Ampleford, Steel, 1985; Steel, Vafopoulou, 2006) и начато исследование зависимости от разнообразных биоритмов процессов роста, развития и размножения (Gu et al., 2012). Для комнатной мухи установлена связь между отдельными показателями приспособленности и интегральным признаком – продолжительностью жизни (ПЖ), но разнообразие биоритмов, связанных с репродукцией, не исследовано (Reed, Bryant, 2004). Наша цель – анализ ритмов репродукции в линиях комнатной мухи, селективированных по ПЖ и срокам массовой репродукции (Беньковская, 2010).

Методы и алгоритмы: Сравнительный анализ ритмов репродукции проводили методом ежедневных подсчетов кладок яиц в выборках (20 пар на линию) из линии с сокращенной ПЖ (*Sh gen*) и увеличенной ПЖ (*L gen*), полученных при отборе на сроки массовой репродукции и ПЖ в исходной линии *S (Cooper)*. Сходство и различие ритмов между парами анализировали с помощью теста Каплана–Мейера.

Результаты: При анализе динамики репродукции в линии *Sh gen* выявлено пять групп самок, достоверно различающихся по длительности репродуктивных циклов; соответственно в линии *L gen* обнаружено шесть таких групп. Среднее значение продолжительности одного репродуктивного цикла у особей в линии *Sh gen* подвержено существенным сезонным изменениям: в осенне-зимний период один цикл длился 1.65 ± 0.22 сут, весной в разных группах самок его продолжительность колебалась от 2 до 6 сут. В линии *L gen* этот показатель достигал 3.957 ± 0.330 сут зимой, весной колебался от 4 до 5 сут. Установлены существование положительной корреляционной зависимости между ПЖ и количеством репродуктивных циклов для групп с близкими ритмами репродукции в линии *L gen* и тесная отрицательная корреляция между ПЖ и плодовитостью в линии *Sh gen*. В каждой линии максимальная плодовитость свойственна группе самок, в наибольшей степени соответствующих отбираемому фенотипу: в линии *Sh gen* это группа с ПЖ = 34.3 ± 0.71 сут, в линии *L gen* – 52.5 ± 2.24 сут.

Заключение: Подтверждена гипотеза о тесной взаимосвязи показателей ПЖ и плодовитости с характером репродуктивных ритмов в группах особей с генетически обусловленными различиями в продолжительности жизни.

Благодарности: Работа выполнена в рамках темы № АААА-А16-116020350032-1 с использованием материалов ЦКП «Коллекция лабораторных насекомых» ИБГ УНЦ РАН.

АНАЛИЗ ФАКТОРОВ МАТЕРИНСКОЙ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ В ПОПУЛЯЦИЯХ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Р.А. Быков^{1*}, И.О. Мазунин², М.А. Юдина^{1,3}, Ю.Ю. Илинский^{1,3}

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Балтийский федеральный университет имени И. Канта, Калининград, Россия

³ Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*e-mail: bykovra@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: *Drosophila melanogaster*, *Wolbachia*, мтДНК

Мотивация и цели: Под факторами материнской наследственности *D. melanogaster* мы подразумеваем эндосимбионта *Wolbachia* и мтДНК. Известно, что для этих факторов характерно сонаследование: определенные варианты мтДНК обнаруживаются только с определенными вариантами *Wolbachia*. В данной работе проведен анализ представленности вариантов мтДНК и разнообразия *Wolbachia* в популяциях *D. melanogaster* Палеарктики.

Методы и алгоритмы: Для анализа были использованы 143 линии *D. melanogaster*, созданные на основе сборов из природных популяций разных регионов Палеарктики. Выделение тотальной ДНК проводилось индивидуально. Анализ мтДНК проводился по полиморфному сайту 2187С/Т и участку 4586-4928 относительно GenBank NC001709. Генотип *Wolbachia* определялся методом ПЦР с праймерами к четырем полиморфным локусам генома бактерии. Для генотипов бактерии из группы CS был проведен анализ трех полиморфных сайтов (208096 Т/С, 297946 С/Т и 469816 Г/Т).

Результаты: Разнообразие мтДНК *D. melanogaster* в популяциях Палеарктики представлено четырьмя группами гаплотипов: I–III, V, VI и IV–VIII. Группы I–III и V являются преобладающими и равномерно распределены по всей исследованной территории, в то время как гаплотипы группы IV–VIII выявлены только на Дальнем Востоке. Группа VI также выявлена на всей территории Палеарктики, однако в популяциях *D. melanogaster* встречается редко. На территории Палеарктики бактерия *Wolbachia* у *D. melanogaster* представлена четырьмя генотипами. Генотип wMel ассоциирован с кладами I–III и V, wMel2 – с кладой IV–VIII, а генотипы wMelCS и wMelCS2 – с кладой VI. При анализе трех полиморфных сайтов для генотипов wMelCS и wMelCS2 был выявлен только один гаплотип *Wolbachia*, что свидетельствует о низком генетическом разнообразии бактерии CS-группы на территории Палеарктики.

Благодарности: Поддержано Российским фондом фундаментальных исследований (№ 16-34-00819, 16-04-00980) и БП № 0324-2016-0002.

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ И ВРЕМЕННАЯ ДИНАМИКА СООТНОШЕНИЙ ЧИСЛЕННОСТИ ВИДОВ МАЛЯРИЙНЫХ КОМАРОВ В ОКРЕСТНОСТЯХ г. НОВОСИБИРСКА

О.В. Ваулин*, И.К. Захаров

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: Oleg.v.vaulin@mail.ru

Ключевые слова: *Anopheles*, временная и пространственная динамика, PCR-RFLP, видовой состав

Мотивация и цели: Всестороннее изучение групп близкородственных видов малярийных комаров является важной задачей для эпидемиологии и для теории эволюции. Одной из таких групп является голарктический комплекс *Anopheles maculipennis*. Комары этого комплекса являются основными переносчиками малярии на территории Северной Евразии и активно переносят возбудителей малярии. Важная деталь в биологии комплекса – микрогеографическая и временная изменчивость пропорций, составляющих этот комплекс видов. Эта изменчивость представляет существенный интерес как механизм расхождения экологических ниш, а также характеризует привязанность к человеческому окружению.

Методы и алгоритмы: В течение теплых сезонов 2010–2016 гг. проводились сборы личинок малярийных комаров (всего изучено пять локальностей). В 2014 и 2015 гг. они проводились многократно в локальности «оз. Каинка», в 2016 г. были взяты серии выборок из двух локальностей с водоемов левого берега Новосибирского водохранилища. Видовая принадлежность определялась с помощью PCR-RFLP ITS2. Суммарно изучена 2101 особь.

Результаты: Подавляющая часть сборов представлена комарами *An. messeae* s. l. (*An. messeae* s. s. и *An. daciae*), три образца соответствовали *An. beklemishevi*, который более обычен к северу, востоку или к югу (Горный Алтай) от Новосибирска. Выявлена существенная межгодовая изменчивость по пропорциям видов *An. messeae* s. s. и *An. daciae*. Лето 2016 г. характеризовалось резким увеличением доли вида *An. daciae*. Внутригодовая динамика может быть интерпретирована как рост доли *An. messeae* s. s. с середины июля по середину августа. Доля *An. daciae* в среднем выше в водоемах на правом берегу Обского водохранилища по сравнению с водоемами левого берега.

Заключение: Полученные результаты дополняют и отчасти конфликтуют с результатами проводимых ранее исследований микрогеографической и временной динамики внутри *An. messeae* s. l. В то же время ранние исследования в этом направлении были связаны главным образом с полиморфными инверсиями в этом таксоне.

Благодарности: Работа поддержана бюджетным проектом № 0324-2016-0003.

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ, СВЯЗАННЫХ С ПОВЕДЕНИЕМ, СТРЕССОМ И ФОТОПЕРИОДИЗМОМ, В МОЗГЕ ДОМЕСТИЦИРУЕМЫХ ЛИСИЦ

Ю.Э. Гербек*, М.А. Генаев, Г.В. Васильев, Р.Г. Гулевич, С.Г. Шихевич, Д.В. Шепелева, Д.А. Афонников, Л.Н. Трут

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: herbek@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: *доместикация, ручные лисицы, отбор по поведению*

Введение: Около 60 лет назад Д.К. Беляев начал в Институте цитологии и генетики СО АН СССР эксперимент по доместикации серебристо-черной лисицы путем селекции на реакцию к человеку. Этот отбор моделирует процесс исторической доместикации животных. Коренные изменения в экспериментальном и историческом одомашнивании животных касаются в первую очередь поведения и ЦНС (Price, CABI, 2002; Trut et al., BioEssay, 2009). В противоположном направлении проводился также отбор на усиление агрессии к человеку. Задачей данной работы является выявление механизмов регуляции экспрессии генов в дорзальном гиппокампе доместизируемых («ручных») и агрессивных лисиц.

Методы: кДНК, полученная из РНК, выделенной из дорзального гиппокампа ручных и агрессивных лисиц (по три в каждой группе) была секвенирована на платформе Illumina HiSeq. Риды картировали на геном собаки (программа STAR) и обрабатывали линейкой программ Cufflinks. Дифференциально экспрессирующиеся гены (ДЭГ) были выявлены с помощью программы Cuffdiff и проанализированы с использованием базы данных KEGG.

Результаты: Обнаружено 496 ДЭГ, значительное количество которых относится к функциональным группам, связанным с метаболическими путями и клеточными процессами. В то же время были выявлены функциональные группы генов, связанные с нервной системой: «кальциевый сигнальный путь», «длительная потенция», «глутаматергический синапс», «ГАМКергический синапс», «сигнальная трансдукция», «аксональное наведение», адренорецепторы, которые участвуют в регуляции тревожности и страха, ассоциированы с социальным распознаванием, обучением и памятью, а также стрессом, пролиферацией нейронов и ростом аксонов. Ранее было показано, что у менее агрессивных лисиц повышен нейрогенез во взрослом гиппокампе (Huang et al., Hippocampus, 2015). Выявлены также ДЭГ, относящиеся к эндокринной системе, а именно «эстрогеновому сигнальному пути» и функциональным группам генов, связанным с тиреоидными гормонами.

Заключение: Обнаружено изменение экспрессии генов нейрогуморальных систем мозга, играющих ведущую роль в регуляции поведения и стресса. Изменения экспрессии генов эндокринной системы, вероятно, связаны со снижением взаимосвязи между репродуктивным ритмом и фотопериодом у ручных лисиц, что более ярко выражено практически у всех домашних животных.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 16-14-10216).

ХРОМОСОМЫ И ГЕНОМЫ ДОМАШНИХ, ПУШНЫХ И ПРОМЫСЛОВЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

А.С. Графодатский*

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

**e-mail: graf@mc.b.nsc.ru*

Ключевые слова: *доместикация, млекопитающие, хромосомы, геномы, эволюция*

Сорок пять лет назад по инициативе Дмитрия Константиновича Беляева начато исследование хромосомных наборов и некоторых особенностей организации геномов видов домашних, лабораторных, пушных и промысловых животных. В настоящем докладе подводятся итоги этих многолетних исследований, выполненных методами традиционной и молекулярной генетики.

1. Описаны особенности организации хромосомных наборов практически всех видов млекопитающих, имеющих отношение к тем или иным формам хозяйственной деятельности человека, от свиней и овец до индийских слонов, северных оленей и южно-американских лам, от домашней кошки и собаки до хорьков, выдр, скунсов и гепардов, от косулей и лосей до моржей и китов.

2. С помощью хромосомного бэндинга, а в последние 20 лет с помощью хромосомного пэйнтинга (Zoo-FISH), определены особенности эволюции хромосом и геномов таксономических групп, к которым принадлежат перечисленные виды.

3. Выявлены любопытнейшие особенности организации некоторых фрагментов геномов, например локализация полноценных круциальных генов развития на добавочных хромосомах у лисицы, любимейшего объекта исследования Д.К. Беляева.

4. На уровне изучения древней ДНК начато изучение изменений геномов в процессе доместикации у таких видов, как собака и лошадь, в значительной степени определивших до- и историческое развитие человека.

Благодарности: Доклад поддержан грантом Российского научного фонда (16-14-10009).

ЛЕГКИЕ ЦЕПИ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ СТЕРЛЯДИ *ACIPENSER RUTHENUS*: ГЕНЕРИРУЕМОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ

С.В. Гусельников^{1,2*}, К.О. Баранов¹, С.В. Кулемзин¹, А.И. Макунин¹,
В.А. Трифонов^{1,2}, А.В. Таранин^{1,2}

¹ Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*e-mail: sguselnikov@mcb.nsc.ru

Ключевые слова: *IgL*, костно-хрящевые рыбы, *VJ* рекомбинация, иммуногенетика

Мотивация и цели: У хрящевых рыб выделяют четыре типа легких цепей иммуноглобулинов (*IgL*-lambda, -kappa, -sigma и -sigma-2) с кластерным типом организации генов. У кистеперых рыб гены всех *IgL*, кроме sigma-2, имеют транслоконный тип организации. У костистых рыб sigma-2 локус не сохранился, а часть kappa- и sigma-локусов имеют транслоконный тип организации. Несмотря на недавние большие успехи геномики и транскриптомики, до сих пор нет полной картины того, как и когда возникли разные типы организации генов иммуноглобулинов. Для воссоздания ранних событий в эволюции *IgL* мы исследовали организацию локусов легких цепей у стерляди, представителя хрящекостных рыб, базальной группы для новоперых (в том числе костистых) рыб.

Методы и алгоритмы: Использованы стандартные методы биоинформационного анализа нуклеотидных последовательностей, высокопроизводительного секвенирования на платформе MiSeq, клонирования и секвенирования кДНК.

Результаты: Проведен биоинформационный анализ транскриптома селезенки и генома стерляди, полученных ранее в ИМКБ СО РАН, и идентифицированы четыре сегмента, кодирующих константные домены (C) легких цепей иммуноглобулинов (*IgL*1-4). На следующем этапе была проведена амплификация 5'RACE кДНК из селезенки стерляди с использованием универсального праймера и праймеров, специфичных для идентифицированных C сегментов. Полученные пулы 5'-концов кДНК *IgL*1-4 были объединены и проанализированы на платформе MiSeq. Полные последовательности *IgL* были амплифицированы с кДНК из селезенки стерляди и секвенированы по Сэнгеру. Проведенный анализ полученных последовательностей позволил оценить у стерляди структуру локусов и генерируемое разнообразие *IgL*. В заключение нами был проведен филогенетический анализ полученных нуклеотидных последовательностей.

Заключение: У стерляди имеется четыре локуса легких цепей иммуноглобулинов: два kappa (транслоконный тип), один lambda и один sigma (кластерный). Основной вклад в разнообразие легких цепей стерляди вносит один из kappa-локусов, имеющий строение по типу кистеперых рыб. Остальные локусы имеют строение по типу костистых рыб. Полученные данные позволяют заключить, что эволюция *IgL* шла независимо в разных таксономических группах путем изменения типа организации и числа локусов, а также количества V, J и C элементов в каждом отдельном локусе.

Благодарности: Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ № 14-14-00275 (MiSeq) и гранта РФФИ № 17-04-01519-а (клонирование и анализ).

СРАВНЕНИЕ МИНИ-СВИНЕЙ СЕЛЕКЦИИ ИЦиГ С ИСХОДНЫМИ ФОРМАМИ ПО АЛЛОТИПИЧЕСКИМ МАРКЕРАМ СЫВОРОТКИ КРОВИ

В.И. Ермолаев^{1*}, М.А. Савина¹, С.П. Князев², В.И. Запорожец¹, С.В. Никитин¹

¹ *ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

² *Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия*

*e-mail: ermolaev@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: *сывороточные аллотипы, АМ-альфа-макроглобулины, АРОВ-LpB-липопротеины, IgGH-иммуноглобулины, А2G-глобулины, селекция, крупная белая порода, светлогорские мини-свиньи, мини-свиньи ИЦиГ*

Создана популяция мини-свиней ИЦиГ СО РАН, соответствующая минимальным критериям мини-стандарта. Она получена скрещиванием свиноматок породы крупная белая (КБ) с хряками селекционной группы светлогорских мини-свиней (СГ). Последующие поколения были получены скрещиваниями гибридов, но без участия КБ. С момента ее образования и по настоящее время в исследуемой группе проводился отбор по массе тела, направленный на ее уменьшение до 50–70 кг, для приведения к минимальным стандартным требованиям для лабораторных мини-свиней [1, 2]. Селекция сопровождалась анализом полиморфизма сывороточных белков нескольких иммуногенетических систем, которыми являлись: АМ-семейство альфа-макроглобулинов; LpB-система липопротеинов низкой плотности, контролируемая геном АРОВ; IgGH-комплекс генов тяжелых цепей иммуноглобулинов; А2G-система глобулинов [3–7].

Благодарности: Работа частично поддержана бюджетным финансированием по государственному заданию (проект № 0324-2016-0002).

Список литературы

1. Горелов И.Г. и др. (2001) Сибирские миниатюрные свиньи – новая биомодель для медико-биологических исследований. *Сиб. вестн. с.-х. науки*. 3-4:81-87.
2. Князев С.П. и др. (2015) Динамика роста живой массы у мелкой и крупной форм домашней свиньи. *Науч. обозрение*. 6:9-13.
3. Yermolaev V.I. et al. (1992) A comparative study of the homologous Lpm-system allotypes of alpha-macroglobulins in American mink and Gp-system allotypes of alpha-macroglobulin in domestic pig. *J. Anim. Breed. Genet.* 109:42-50.
4. Yermolaev V.I. et al. (2013) Study of swine alpha-macroglobulin gene-family polymorphism in the context of some problems of animal breeding. *Rus. J. Genetics: Appl. Res.* 3(3):225-232.
5. Савина М.А. и др. (2001) А2G – новая система аллотипов альфа-2-глобулинов сыворотки крови свиней. *Генетика*. 37(4):524-528.
6. Никитин С.В. и др. (2002) Возрастная изменчивость фенотипической экспрессии и наследование IgG-системы аллотипов иммуноглобулинов свиньи. *Генетика*. 38(3):368-375.
7. Никитин С.В. и др. (2006). Разнообразие популяций диких и домашних свиней по комплексу аллотипов сыворотки крови. *Генетика*. 42(3):403-413.

ПОВЫШЕННАЯ МУТАБИЛЬНОСТЬ В ЛИНИИ *DROSOPHILA MELANOGASTER* 3NS И ЕЕ МОДИФИКАЦИЯ ПРИ МЕЖЛИНЕЙНЫХ СКРЕЩИВАНИЯХ

Ю.А. Коромыслов*, О.В. Ваулин, И.К. Захаров

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: Koromyslov@ngs.ru

Ключевые слова: мутации, гипермутабельность, мобильные элементы, *Drosophila melanogaster*

Мотивация и цели: Изучение мутабельности в природных и искусственных популяциях модельных организмов является важной задачей с точки зрения теории эволюции и популяционной биологии. Мутационный процесс затрагивает многие хозяйственно и эпидемиологически важные виды животных и растений, а также человека. Один из механизмов повышения мутабельности – увеличение активности мобильных элементов. Мутации, вызванные инсерцией мобильных элементов, часто (хотя и не всегда) проявляют нестабильность и вызывают определенный научный интерес. Целью настоящей работы являлся анализ особенностей мутационного процесса в выделенной из природы высокомутабельной линии 3NS, как ведущейся самой в себе, так и при ее межлинейных скрещиваниях с лабораторной линией.

Методы и алгоритмы: В работе были использованы классические методы генетических исследований *Drosophila melanogaster* на предмет видимых мутаций. Для определения мутаций применялись скрещивания с маркерными лабораторными линиями. Мухи содержались в стандартных условиях (25 °C) на дрожжевом корме. Поиск мутаций производился с помощью бинокулярного микроскопа с малым увеличением МБС-9.

Результаты: При изучении 25 изосамочьих линий из природных сибирских популяций *Drosophila melanogaster* в линии 3NS была обнаружена самая высокая мутабельность. Эта линия исходно имела рецессивную видимую мутацию в хромосоме 2 с фенотипом «волнистые крылья с пузырями». В линии *de novo* возникло 4 мутации в X-хромосоме (y^1 , cv , f и car с частотой около 2.29×10^{-4} для каждой) и две аутосомные с частотами по 1.34×10^{-4} – a (хромосома 2) и se (хромосома 3). Все мутации оказались стабильными.

При скрещивании с линией 2-20 (bw) было зафиксировано 11 мутационных событий в X-хромосоме. Возникли мутации: N (2 раза, частота 5.59×10^{-4}), sn (3 раза, частота 8.38×10^{-4}), y^1 , w , v , dy , fw , os (частота возникновения каждой – 2.79×10^{-4}). Также в аутосомах возникли мутации: net (2 хр), Bl (2 хр) и ve (3 хр). Дополнительно возникла мутация f (от нормальной – по фенотипу производной по гену fw , частота 8.72×10^{-4}).

Три мутации X хромосомы (возникшие при скрещивании с 2-20) оказались нестабильными: sn , fw и f (частота обратного мутирования fw – 6.8×10^{-3} , sn – 1.14×10^{-3} , f – 2.4×10^{-3}). Всего по гену fw было зафиксировано 12 мутационных событий, при этом частота мутирования от fw^+ к fw составила 2.6×10^{-3} . Для гена fw состояние нестабильности было зафиксировано впервые.

Заключение: Предполагается, что за повышенной мутабельностью в данном случае стоит мобильный элемент (или элементы) и особенности их взаимодействия с генетическим окружением, которое меняется в результате скрещивания. Предполагается молекулярно-генетическая проверка этого предположения.

РАЗНООБРАЗИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ КОМПОНЕНТЫ ПАССИВНО-ОБОРОНИТЕЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ ПО ОТНОШЕНИЮ К ЧЕЛОВЕКУ МИНИ-СВИНЕЙ ИЦиГ СО РАН

В.С. Ланкин*, С.В. Никитин, О.В. Трапезов

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: lankin@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: мини-свиньи, реакция удаления от человека, факторы среды, полиморфизм, генетические и средовые компоненты

Миниатюрные свиньи представляют новый вид лабораторных животных, широко используемых в медико-биологических исследованиях. Актуальной задачей для разведения мини-свиней является создание генетически «добронравных» и легко управляемых линий этих животных. Решение этой задачи сдерживает отсутствие надежных критериев отбора «не реагирующих» на человека особей и сведений о генетическом контроле поведения по отношению к человеку у мини-свиней.

Цель: Изучить пассивно-оборонительное поведение по отношению к человеку в зависимости от влияния наследственности и среды и оценить правомерность гипотез о его типе наследования и генетическом контроле у мини-свиней ИЦиГ.

Материалы и методы: Исследования проводили на шести разных по полу и возрасту группах мини-свиней. Для минимизации средовых влияний использовали усовершенствованный метод определения пассивно-оборонительных реакций на человека, позволяющий выявлять 16 поведенческих фенотипов. Особей с «константным» отсутствием реакции удаления от человека относили к доместикационному 3-3-фенотипу, а с «константно» выраженной реакцией – к альтернативному «дикому» 0-0-фенотипу. Всех других особей выделяли в I–X класс фенотипов промежуточного поведения. Генетические параметры изменчивости этого поведения определяли по стандартным формулам статистической генетики.

Результаты: По относительному вкладу в изменчивость поведения изученные факторы ранжируются в следующем порядке: возраст (0.4 %), пол (0.6 %), социальная изоляция (1.9–2.8 %), генотип хряков (13.6 %). Пол и возраст не влияют на поведение поросят в период с 1.5 мес до полового созревания. Изоляция достоверно влияет на проявление страха к человеку только у 1.5-месячных поросят. У свиноматок возрастные изменения поведения зависят от косвенного отбора особей 3-3-фенотипа и ведут к увеличению его концентрации в среднем до 52 %, по сравнению с 18 % у молодняка. Показано существование у мини-свиней устойчиво воспроизводимого наследственного полиморфизма поведения по отношению к человеку, адекватно описываемого майоргенной моделью. Проведено разложение общей фенотипической изменчивости этого поведения на генетические и средовые компоненты у мини-свиней в разном возрасте. Аддитивная наследуемость изучаемого поведения (73.5 %) не отличается от обнаруженной ранее у продуктивных свиней (77.4 %) и является обычной для дискретных качественных признаков. Сделан вывод, что наследственный полиморфизм данного поведения представляет новый резерв адаптивной изменчивости для селекции лабораторных линий мини-свиней, оптимизированных по реактивности к стрессам и толерантности к человеку.

Благодарности: Работа выполнена в рамках бюджетного проекта № 0324-2015-0004.

ЭФФЕКТЫ ОТБОРА ПО ПОВЕДЕНИЮ НА НЕКОТОРЫЕ КОГНИТИВНЫЕ СПОСОБНОСТИ ЛИСИЦ И ТИПОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИХ НЕРВНОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ

И.А. Мухамедшина*, А.В. Харламова, Л.Н. Трут

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: aden_66@mail.ru

Ключевые слова: *доместикация, агрессивность, типологические особенности, возбудимость, когнитивные способности, концентрация внимания*

Мотивация и цели: Оценить некоторые параметры когнитивных способностей ручных, агрессивных и неселекционируемых лисиц и связь этих параметров с типологическими особенностями нервной деятельности.

Методы и алгоритмы: Тестировали способность лисиц различать количества предъявляемых кусочков корма. Для этого лисицам одновременно предъявляли две емкости, содержащие следующие соотношения кусочков: 10:1, 5:1, 10:5 и 3:2. По разработанной нами методике оценивали способность лисиц концентрировать внимание на значимом факторе и скорость угашения выработанного поведения. Исследовали способность к обучению инструментальному навыку нажимать на одну из двух педалей с целью получения пищевого подкрепления и способность к переобучению нажимать на вторую педаль – после смены подкрепляемой педали. Для оценки уровня общей возбудимости нервной системы измеряли двигательную активность лисиц на фоне пищевого возбуждения с помощью специального датчика, помещенного в клетку. Все эксперименты проводили в домашних клетках животных для сведения к минимуму возможных стрессирующих влияний тестов.

Результаты: Агрессивные лисицы обладают лучшей способностью к концентрации внимания на источнике пищевого подкрепления, чем ручные. Однако ручные лисицы оказались более успешными в дискриминировании количественных соотношений, чем агрессивные и неселекционируемые в решении задачи (10:1). Это объясняется различными стратегиями поведения лисиц исследованных групп. Агрессивные лисицы чаще предпочитали выбирать лишь одну из сторон на протяжении теста, несмотря на количество кусочков корма, следствием чего был их меньший успех по сравнению с ручными в дискриминировании простых количеств. У ручных лисиц в меньшей степени проявлялось предпочтение какой-либо одной стороны, что может объясняться большей подвижностью нервных процессов, выявленной у них в тесте на переобучение.

Заключение: Отбор по поведению оказал влияние на типологические особенности нервной деятельности лисиц, что повлекло за собой различия, продемонстрированные ручными, агрессивными и неселекционированными лисицами в когнитивных тестах.

Благодарности: Работа поддержана бюджетным проектом № 0324-2016-0002.

Доступность: видеозаписи тестов доступны на сайте ИЦиГ СО РАН: <http://www.bionet.nsc.ru/razrabotki/prikladnyie-razrabotki/zhivotnovodstvo/lisiczyi>

УНИКАЛЬНЫЕ ОКРАСКИ МИНИ-СВИНЕЙ СЕЛЕКЦИИ ИЦиГ СО РАН

С.В. Никитин^{1*}, С.П. Князев², К.С. Шатохин³, М.А. Савина¹, В.И. Запорожец¹,
В.И. Ермолаев¹

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск Россия

³ Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологии РАН, пос. Краснообск, Новосибирск, Россия

*e-mail: nsv1956@mail.ru

Ключевые слова: окраска волосяного покрова, масть, мини-свиньи, селекция, отбор

В результате специально спланированных скрещиваний в стаде мини-свиней ИЦиГ произошло «выщепление» особей двух новых необычных мастей, имеющих ювенильную и половозрелую окраску. Это серая, представляющая собой масть дикого типа – агути с редуцированным рыжим пигментом, и черно-пестрая, меняющая с возрастом цвет фона.

Для серой масти характерно практически полное отсутствие рыжего пигмента, контролируемого локусом *TYRP1*, и возрастное повышение интенсивности синтеза черного пигмента, контролируемого локусом *TYR*, очевидно, обусловленное действием генов-регуляторов. Для черно-пестрой масти у мини-свиней ИЦиГ типичным проявлением является рождение поросят со светло-рыжим (чаще) или красновато-коричневым (реже) фоном, который к возрасту одного года трансформируется соответственно в серый или темно-серый. Очевидно, обе эти масти являются следствием двух независимых параллельных процессов. Во-первых, редукции рыжего пигмента: у поросят серой масти этот процесс завершается еще до рождения, у черно-пестрых – после рождения. Во-вторых, интенсивного синтеза черного пигмента, который начинается после рождения особи.

Можно предположить, что данное явление есть прямое следствие «выхода» накопленного домашними свиньями черной и особенно белой генетического груза «на поверхность». Собственно говоря, произошло разрушение сложной адаптивной системы, коей является масть дикого типа – агути, у свиней, использованных при выведении мини-свиней ИЦиГ пород: черной (вьетнамская) и белых (крупная белая и ландрасская) в «скрытом», в связи с ее гипостатичностью, состоянии на протяжении столетий. То есть на протяжении длительного периода масть агути была избавлена от давления отбора, что способствовало накоплению мутаций в аллелях локусов, ее контролирующих.

Благодарности: Работа поддержана бюджетным проектом № 0324-2015-0004.

Список литературы

1. Никитин С.В. и др. (2016) Полиморфизм локусов масти у мини-свиней. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 20(5):584-595. DOI 10.18699/VJ16.180.

ПОЛНОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПРИЗНАКОВ ПРОДУКТИВНОСТИ У РОССИЙСКИХ ПОРОД МОЛОЧНОГО СКОТА

А.В. Плюснина^{1*}, Н.С. Юдин¹, Н.М. Белоногова¹, Д.М. Ларкин^{1,2}

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Royal Veterinary College, University of London, London, UK

*e-mail: plusninaav@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: крупный рогатый скот, полногеномный анализ ассоциаций, наследуемость, молочная продуктивность

Одной из важнейших задач современной генетики сельскохозяйственных животных является выявление конкретных мутаций, генов и генных сетей, контролирующих хозяйственно важные признаки, включая молочную продуктивность. Известно, что использование полногеномного анализа ассоциаций позволяет картировать локусы количественных признаков продуктивности с низкой наследуемостью [1]. Целью исследования было проведение полногеномного анализа ассоциаций признаков продуктивности (удой за 305 дней, содержание жира в молоке, масса жира за 305 дней) у российских пород молочного скота. В исследование были взяты 70 наиболее неродственных (по данным родословных) животных черно-пестрой, костромской, ярославской и бестужевской пород. ДНК выделяли из крови или семени методом фенольной экстракции. Генотипирование проводили на чипе GeneSeek Genomic Profiler High-Density, содержащем около 150000 однонуклеотидных полиморфных маркеров (SNP). Для полногеномного анализа ассоциаций использовали R-пакет GenABEL [2]. При анализе животных четырех пород объединяли в одну группу (влияние породы учитывали как фиксированный эффект). Для определения порога достоверности применяли поправку Бонферрони и значение q-value.

После фильтрации мономорфных SNP и SNP с неизвестной локализацией, для дальнейшего анализа использовали 139375 SNP. Выявлены статистически достоверные сигналы ассоциации процентного содержания жира в молоке с локусами на 5 и 21 хромосомах. Вблизи позиции 66,605,011 на хромосоме 5, для которой нами найдена ассоциация, находится ген *IGF1* (*Insulin-like growth factor 1*). Известно, что ОНП в гене *IGF1* ассоциирован с содержанием насыщенных и ненасыщенных жирных кислот в молоке у коров голштинской породы [3]. Для остальных признаков достоверных ассоциаций не выявлено.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 16-14-00090).

Список литературы

1. Сермягин и др. (2015) *Сельскохозяйственная биология*. 51:182-193.
2. Aulchenko et al. (2007) *Bioinformatics*. 23:1294-1296.
3. Li et al. (2016) *BMC Genetics*. 17:110.

ГЕНЫ И СВЕТ: МНОГО ЛЕТ СПУСТЯ

А.О. Рувинский

Университет Новой Англии, Армидэйл, Австралия

e-mail: aruvinsk@gmail.com

Ключевые слова: мутация, ген *KIT*, *KIT* лиганд, имплантация, фотопериод, *Vulpes vulpes*

Этот доклад написан к 100-летию со дня рождения Д.К. Беляева и затрагивает его работы, посвященные влиянию фотопериодических условий на размножение и эмбриональное развитие млекопитающих. Грузинская белая мутация у лисиц (W^G) была использована в качестве одной из моделей в этих исследованиях. В контрольных условиях способность гомозигот по этой мутации успешно пройти имплантацию резко снижена. Экспериментальное удлинение светового дня для беременных самок из $W^G/w \times W^G/w$ скрещиваний ведет к значительному возрастанию частоты мутантных гомозигот в потомстве. В статье предпринята попытка анализа результатов этой работы в свете современных данных. Грузинская белая мутация, вероятно, обуславливает снижение экспрессии гена *KIT*. Рассмотрение молекулярных и клеточных взаимодействий с участием белка *KIT*, его лиганда *KITLG* и их влияния на развитие бластоцист указывает на возможность замедленного развития W^G/W^G бластоцист и, как следствие, опоздание к началу имплантации. Изменение фотопериодических условий может через стимулирование развития W^G/W^G гомозиготных бластоцист, замедление роста трофобласта у зрелых бластоцист, повышение готовности эндометрия и вероятную задержку начала имплантации создавать более благоприятные обстоятельства для успешной имплантации W^G/W^G бластоцист.

ПОПУЛЯЦИОННЫЙ СКРИНИНГ ПОЛИМОРФИЗМА АЛЛОТИПОВ Ld-СИСТЕМЫ ЛИПОПРОТЕИНА НИЗКОЙ ПЛОТНОСТИ СЫВОРОТКИ КРОВИ НОРОК (*MUSTELA VISON – NEOVISON VISON*)

М.А. Савина*, О.В. Трапезов, В.И. Ермолаев

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: savinama@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: АРОВ, липопroteины, полиморфизм, РОМС, LRP норки, гаплоассоциация АРОВ-РОМС

Представлены данные многолетнего популяционного скрининга двух аллельных кодоминантных Ld1 и Ld2 аллотипов Ld-системы АРОВ протеина липопroteина низкой плотности норок [1, 2]. Они получены типированием 1890 норок разных звероферм начиная с 1972 г. [3, 4]. Установлено, что частота аллеля Ld^1 в среднем составляет 0.9, а частота аллеля Ld^2 – 0.1. Критически важным показателем популяционной и селекционной неравнозначности аллелей является как относительная редкость аллотипа Ld2, так и явный недостаток встречаемости гомозигот Ld^2/Ld^2 . Обусловлено это, по-видимому, пониженной субвитаальной жизнеспособностью особей этого генотипа и относительной функциональной дефективностью варианта аллеля Ld^2 по отношению к аллелю Ld^1 .

Статистически значимые отклонения от этого среднего соотношения частот, иногда почти десятикратные, зафиксированы в следующих случаях: 1) повышение доли животных с маркером Ld2 зафиксировано только у норок агрессивного типа поведения; 2) понижение доли животных с Ld2 зафиксировано у норок ручного типа поведения селекции, а также в хозяйствах с высокой пораженностью алеутской болезнью.

Предполагается, что фактором, способствующим поддержанию и, возможно, распространению аллеля Ld^2 , является тесное сцепление этого аллеля гена АРОВ с суперрегуляторным геном РОМС (проопиомеланокортина), некоторые гипотетические регуляторные аллели которого, возможно, вызывают суперпродукцию АКГГ, МСГ и ряда других надпочечных гормонов, влияющих на поведение, окраску, стрессорную восприимчивость и другие показатели систем, подверженных разнообразной селекции.

Предполагается также, что для выживания отдельных особей ослабленного полувитаального (субвитаального) генотипа необходимо присутствие соответствующего коадаптивного генотипа хотя бы одного гена семейства рецепторов липопroteина LRP1- LRP6, гены которых находятся в других хромосомах.

Благодарности: Работа поддержана бюджетным проектом № 0324-2016-0002.

Список литературы

1. Baranov O.K., Savina M.A. (1979) Immunogenetic study on the polymorphism of serum alpha-2-lipoprotein in mink. III. Ld1 allotype of low-density lipoprotein. *Biochem. Genet.* 17(3/4):343-350.
2. Baranov O.K., Savina M.A. (1981) Immunogenetic study on the polymorphism of serum alpha-2-lipoprotein in mink. IV. Diallelism at the Ld-locus of low-density lipoproteins. *Biochem. Genet.* 19(9/10):997-1015.
3. Беляев Д.К. и др. (1985) Сдвиг частот аллелей Ld-локуса в стадах норок, пораженных алеутской болезнью. *Цитология и генетика.* 19(2):132-137.
4. Yermolaev V.I. et al. (2014) Selection for behavior and correlation with the macroglobuline and lipoprotein systems in the American mink (*Neovison vison*). *Rus. J. Genetics: Appl. Res.* 4(6):479-482.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПАСПОРТИЗАЦИЯ ДЕЛЬФИНОВ *Tursiops truncatus ponticus*

А.А. Сазанов, А.В. Тимофеев*, А.В. Попов, Д.О. Виноходов

Санкт-Петербургский государственный технологический институт (Технический университет),
Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: tavnaukaasp@bk.ru

Ключевые слова: черноморская афалина, генетическая паспортизация, природоохранные биотехнологии

В последние десятилетия благодаря достижениям молекулярной генетики стали широко внедряться в сельскохозяйственную, ветеринарную и медицинскую практику биотехнологические подходы, основанные на ДНК-паспортизации. Современный метод идентификации особей морских млекопитающих, содержащихся в искусственной среде обитания, – метод микрочипирования не позволяет вести репрезентативный учет животных, в том числе в связи с недобросовестностью отдельных физических и юридических лиц, занимающихся оборотом этих водных животных, нанося вред здоровью последних. Так, наиболее достоверным и гуманным способом идентификации морских млекопитающих, находящихся в неволе, может стать их молекулярно-генетическая паспортизация с сохранением банка таких данных в соответствующих государственных органах при неременном обеспечении беспрепятственного доступа к ним любых заинтересованных в этом лиц. Поэтому цель данной работы заключается в разработке надежного способа ДНК-контроля биологического родства черноморских афалин на основе изучения микросателлитной изменчивости в популяции дельфинов, находящихся в РФ в неволе. Черноморский подвид дельфинов афалин (*Tursiops truncatus ponticus*) относится к охраняемым животным, так как занесен в список млекопитающих Красной книги России как редкий [1] и в неволе содержится в дельфинариях и океанариумах. Материалом для работы послужили образцы периферической крови 24 животных, любезно предоставленные сотрудниками дельфинария в Анапе. Из полученных образцов экстрагировали тотальную ДНК при помощи коммерческого набора Genomic DNA purification kit (Thermo Scientific, США), которую в дальнейшем использовали для ПЦР-амплификации 9 аутосомных микросателлитных локусов, изученных американскими исследователями на атлантико-средиземноморском и тихоокеанском подвидах афалин [2]: TexVet (TV)1-9. Один из ПЦР-праймеров в реакциях – флуоресцентно-меченый красителем FAM. В последующем проводили дискриминацию аллелей посредством разделения и анализа длин ампликонов при помощи капиллярного электрофореза с использованием генетического анализатора ABI 3500xl (Applied Bio-systems/Life Technologies, США) и системы электрофореза на микрочипах для исследования нуклеиновых кислот MultiNA (Shimadzu, Япония). Из полученных результатов следует отметить: некоторые из предложенных в работе [2] локусов успешно (с высокой чувствительностью и специфичностью) амплифицировались на выделенных препаратах ДНК черноморской афалины: TV1, TV3, TV5, TV7; проведено генотипирование и созданы предварительные генетические паспорта (по трем локусам) 24 особей. Сейчас продолжается поиск, сбор и анализ материала для создания и укрупнения банка биологических образцов афалин, содержащихся в неволе в России; планируется создание и апробация системы диагностической мультиплексной ПЦР для учета афалин, которая в дальнейшем смогла бы стать стандартной и послужить научно-методическим началом обязательной молекулярной паспортизации других охраняемых морских млекопитающих. Полученные данные о генетической структуре популяций афалин в неволе могут помочь в сохранении генофонда этого подвида.

Благодарности: Анапскому дельфинарию за предоставленный биологический материал.

Список литературы

1. Красная книга Российской Федерации (животные) (2001). Гл. редкол.: В.И. Данилов-Данильян и др. М.: Астрель; 862.
2. Rooney A.P. et al. (1999) Microsatellite Diversity in Captive Bottlenose Dolphins (*Tursiops truncatus*). *J. Heredity*. 90(1):228-231.

ОЦЕНКА ВРЕМЕНИ ФОРМИРОВАНИЯ РАЗОБЩЕННЫХ АРЕАЛОВ У ПАЛЕАРКТИЧЕСКИХ ЛЕНТОЧНИКОВ *LIMENITIS* (LEPIDOPTERA: NYMPHALIDAE)

В.И. Соловьев^{1, 2 *}, В.В. Дубатов³, В.Ю. Вавилова¹, О.Э. Костерин^{1, 2}

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: sol_vlad@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: *Limenitis*, дизъюнктивные ареалы, филогеография, датировка, гистон H1, COI

Мотивация и цели: В последние 1.6 млн лет Северная Евразия подвергалась циклическим колебаниям температуры, которые приводили к смене растительных формаций и формированию дизъюнктивных ареалов. Ряд палеарктических ленточников (*Limenitis*) имеют дизъюнктивные ареалы, в частности *L. helmanni* имеет алтайско-дальневосточный ареал, а *L. camilla* – амфипалеарктический. Оценка времени таких дизъюнкций ранее варьировала на три порядка – от миллионов до десятков тысяч лет. Целью работы стала датировка времени амфипалеарктической (*L. camilla*) и алтайско-дальневосточной (*L. helmanni*) дизъюнкции. В качестве калибровки изменчивости гена гистона H1 была использована амфиберингийская родовая дизъюнкция между неарктическими *Limenitis* и палеарктическим *L. populi*. **Методы и алгоритмы:** Последовательности генов COI и гистона H1 были расшифрованы у 60 образцов рода *Limenitis*. Филогенетический анализ был проведен в программе MEGA 6.0. Для датировок использовали программу BEAST 2.4.3, визуализировали деревья с помощью DensiTree и FigTree 1.4.3.

Результаты: Изменчивость гена гистона H1 в пределах амфиберингийской родовой дизъюнкции в роде *Limenitis* (*L. populi*, *L. arthemis*) составляет 8.6 %, что совпадает с изменчивостью COI. Топология байесовского дерева на основе гена гистона H1 совпала с топологией филогенетических деревьев, построенных для этих же образцов методами NJ, ML, и согласуется с деревьями, построенными на основе гена COI. Первичные структуры генов COI и H1 у изолятов из разных частей дизъюнктивных ареалов у *L. helmanni*, *L. camilla* отличаются незначительно. Консенсусные последовательности гена гистона H1 совпадают друг с другом в различных частях дизъюнктивного ареала у каждого из этих видов, что свидетельствует в пользу голоценовой датировки разрывов ареалов у *L. helmanni* и *L. camilla*. Обеднение гаплотипического разнообразия в западных частях ареала хорошо согласуется с представлениями о перемещении неморальных видов в климатическом оптимуме голоцена с востока на запад.

Заключение: Отсутствие зафиксировавшихся замен свидетельствует в пользу голоценовой датировки дизъюнкций ареалов у палеарктических ленточников *L. helmanni* и *L. camilla*.

Благодарности: Работа поддержана грантом РФФИ 16-34-00845.

ЭВОЛЮЦИОННОЕ ЗНАЧЕНИЕ ЖЕСТКОГО ИНБРИДИНГА В СВЕТЕ УЧЕНИЯ Д.К. БЕЛЯЕВА О ДЕСТАБИЛИЗИРУЮЩЕМ ОТБОРЕ

В.Н. Стегний

*Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, Россия
e-mail: stegniy@res.tsu.ru*

Ключевые слова: инбридинг, гетерохроматин, доместикация, дестабилизация генома

Обосновывается представление об эволюционном значении жесткого инбридинга в условиях экстремальных режимов внешней среды (особенно температур) для процессов формирования адаптивного генетического полиморфизма и видообразования. При этом основными проявлениями «парадоксального» эффекта жесткого инбридинга являются следующие: 1) структурная и функциональная реорганизация генома генеративной (репродуктивной) системы; 2) активация мобильных генетических элементов. Это может приводить к генерации мутаций различных типов (генных, хромосомных, геномных, системных) и модификациям гетерохроматина. Жесткий инбридинг приводит к гормональным сдвигам и существенной реорганизации всей гормональной системы, которая регуляторно может вызвать изменения в активности генов. В работах школы Д.К. Беляева по одомашниванию серебристо-черных лисиц показано, что жесткий инбридинг наряду с направленным доместикационным отбором приводит к гормональной перестройке у лисиц и появлению (вспышке) различных аномальных на морфологическом и генетическом уровнях проявлений. По-видимому, в этой феноменологии кроме отбора играет роль жесткий инбридинг. Даже такой консервативный признак, как скорость эмбриогенеза, при этом меняется. Было выявлено, что число клеток в зародышах доместичированных инбредных линий почти в два раза выше, чем у аутбредных лисиц. Бластомеры быстрее обычного делятся? и эмбриогенез в целом ускоряется. Реорганизация генеративной системы посредством воздействия гормонов и медиаторов возможна в оогенезе и сперматогенезе, а также в раннем эмбриогенезе. Нейрогуморальный стресс дестабилизирует сложившуюся морфогенетическую систему. Установлено, что наследственная система оказалась способной отвечать на стресс целостной реакцией на основе введенного Б. Мак-Клинтон представления о геномном стрессе, приводящем к массовой активации мобильных элементов и реорганизации генома. Существо концепции дестабилизирующего отбора Д.К. Беляева заключается в том, что движущий отбор, направленный на признаки, изменчивость которых в сильной степени сопряжена с изменчивостью функционального состояния регуляционных систем онтогенеза, обладает дестабилизирующей функцией. Генетические элементы, контролирующие свойства нейрогормональных регуляционных систем, занимают высокое положение в иерархической структуре генома. Поэтому изменения в процессе отбора этих элементов генома могут служить источником огромного повышения темпов и размаха изменчивости, т.е. сообщать такому отбору большую эволюционную силу. О механизмах дестабилизирующего отбора, приводящих к резкому ускорению формообразовательного процесса, Д.К. Беляев говорит определенно: «вполне вероятным представляется, однако, что сильное, а, возможно, решающее влияние на дестабилизацию онтогенеза и соответственно на усиление формообразования оказывают гормоны, формообразующая и генетическая роль которых стала в настоящее время достаточно признанной...» (Д.К. Беляев. О некоторых вопросах стабилизирующего и дестабилизирующего отбора // История и теория эволюционного учения. Вып. 2. [Эволюционные взгляды И.И. Шмальгаузена (к 90-летию со дня рождения)]. 1974. С. 76–84). По сути, доместикация есть экстремальное воздействие внешней среды, и жесткий инбридинг при этом приводит к дестабилизации генома, вследствие чего и происходит его реорганизация.

ДВАДЦАТЬ ПОКОЛЕНИЙ ОТБОРА НОРОК (NEOVISON VISON) ПО ПОВЕДЕНИЮ. КАКОВЫ ПОСЛЕДСТВИЯ?

О.В. Трапезов*, Л.И. Трапезова

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: trapezov@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: селекция, отбор, норка, Neovison vison, поведение, неотения

Мотивация и цели: В ходе многолетнего эксперимента по селекционному изменению оборонительной реакции на человека у американских норок было показано, что такой отбор способен создавать возникновение фенотипических изменений не только в направлении своего действия, но и в других направлениях.

Методы и алгоритмы: В сравнительном анализе исследовались животные: 1) в природной популяции; 2) в промышленной популяции, не затронутой специальным отбором по поведению; 3) в экспериментальной популяции, где ведется многолетний направленный отбор, как на ручное, так и на агрессивное поведение по отношению к человеку.

Результаты: Первым коррелированным ответом при отборе по поведению было изменение характера пигментации волосяного и кожного покрова. Отбор на ручное или доместикационное поведение привел к появлению *de novo* в доместизируемой популяции норок с частотой 10^{-3} двух полудоминантных мутаций окраски: *Серебристая* ($S^X/+$) и *Черный хрусталь* ($C_R/+$).

Коррелированным ответом при селекции на агрессивность стало усиление степени пигментации кожи и волоса. Гиперпигментация агрессивных норок сопровождалась возрастанием количества животных с пигментированным эпителием неба. Для сравнения: если среди норок с реакцией страха и положительной реакцией на человека доля животных с пигментированным небом составила 3.4 %, то среди агрессивных – 17.2 %.

Молекулярно-генетический анализ показал, что у гиперпигментированных агрессивных норок имеются большие дубликации участков генома, содержащих различные гены. Один из них продуцирует нейропептид *нейротензин*, имеющий отношение к агрессивному поведению. Это дает основание допускать, что у животных, несущих экстракопии этого гена, возможно усиление агрессивного поведения. Кроме того, эта дубликация включает в себя *KITLG* ген, вовлеченный в процесс пигментации, что может, в свою очередь, объяснить гиперпигментацию агрессивных животных.

В популяции доместизируемых норок зафиксировано появление *de novo* морфологических аббераций: с частотой 10^{-3} , 10^{-4} – укорочение и спиральное закручивание хвоста, появление вислоухости (свойственной многим домашним животным).

Экспериментальный материал показал, что затрагиваемые отбором на поведение гены обладают также функцией генов скоростей развития. Так, разница в сроках открытия глаз между агрессивными и ручными норчатами составляет 4.1 дня ($p < 0.001$). Такую задержку ювенильного признака в раннем постнатальном онтогенезе норчат из доместизируемой популяции следует отнести к явлению неотении.

Заключение: Можно допустить, что отбор по поведению приводит к сдвигу в тайминге эмбриогенеза, что приводит к появлению в потомстве новых морфофизиологических свойств.

СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ, ИСТОРИЯ ФОРМИРОВАНИЯ И СЛЕДЫ СЕЛЕКЦИИ В ГЕНОМАХ МЕСТНЫХ ПОРОД КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, РАЗВОДИМЫХ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

А.А. Юрченко¹, Н.С. Юдин¹, Р.Б. Айтназаров¹, А.В. Плюснина¹, Д.М. Ларкин^{1, 2*}

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Королевский ветеринарный колледж, Университет Лондона, Лондон, Великобритания

*e-mail: dmlarkin@gmail.com

Ключевые слова: крупный рогатый скот, структура популяции, следы селекции/адаптации, местные породы

Генетическая структура популяций, история формирования и генетические следы селекции/адаптации были изучены в геномах 18 преимущественно российских пород крупного рогатого скота (КРС): бестужевской, черно-пестрой, бурятской, казахской белоголовой, калмыцкой, костромской, холмогорской, тагильской, украинской белоголовой, якутской, ярославской, красной степной, алатауской, красной горбатовской, истобенской, юрьинской, красно-пестрой и серой украинской. Число образцов варьировало от 2 до 39, со средним числом 20 для каждой породы. Генотипирование проводилось на чипе 150K GGP или 50K Illumina. Филогенетический анализ российских пород, проведенный совместно с данными генотипирования 134 мировых пород КРС (Decker et al. 2014. *PLOS Genetics*. 10:e1004254), показал близкие отношения между большинством российских пород и породами европейского происхождения. Однако якутская и бурятская породы вошли в кластер, общий с рядом азиатских пород. Основные выявленные кластеры российских пород: (1) якутская, калмыцкая, бурятская; (2) серая украинская; (3) остальные породы. Объединение результатов структурного анализа (admixture) и многомерного шкалирования (MDS) позволило определить количество генетически различающихся групп пород КРС и группы наиболее родственных пород. Таким образом, мы смогли различить породы, обладающие уникальным генофондом, и композитные породы. Данные F статистики (F_{ST}) были использованы для выявления следов селекции в геномах кластера якутской, калмыцкой и бурятской пород, в то время как анализ гаплотипов (программа hapFLK) позволил найти следы селекции/адаптации в геномах самого большого кластера российских пород с использованием ~139000 генетических маркеров. Геном якутской породы содержит множественные районы селекции/адаптации, насыщенные генами иммунного ответа, включая гены, активируемые гамма-интерфероном. Анализ гаплотипов показал, что у российских пород районы генома со следами селекции/адаптации содержат известные гены-кандидаты, отвечающие за окраску шерсти (*KIT*, *KITLG*), поведение (*IMPAD1*), формирование каркаса (*PDE1B*) и мышечную массу (*FAM184B*) у КРС и других видов животных.

Наша работа – это необходимый шаг для успешного применения геномных технологий для увеличения производительности пород КРС и эффективного использования геномной селекции в сельском хозяйстве Российской Федерации.

Благодарности: Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 16-14-00090).

GENETIC AND ECOLOGICAL CONSEQUENCES OF GLOBAL WARMING IN THE POPULATIONS OF MALARIA MOSQUITOES IN THE EUROPEAN PART OF RUSSIA

M.I. Gordeev*, A.V. Moskaev

Moscow Regional State University, Moscow, Russia

*e-mail: gordeev_mikhail@mail.ru

Key words: *chromosomal polymorphism, global warming, malaria mosquitoes, Anopheles*

Motivation and Aim: Wintering conditions and the status of breeding sites of mosquitoes of the genus *Anopheles* (Diptera, Culicidae) have changed as a result of climate warming. The aim of the work was to assess the effect of warming on the areas of the sibling species of malaria mosquitoes and chromosomal polymorphism in populations in the European part of Russia.

Methods and Algorithms: Collections of larvae of malaria mosquitoes were obtained in Karelia, Komi and Moscow region, where the species and chromosome composition of malarial mosquitoes was studied 36–40 years ago [1]. Preparations of polytene chromosomes were prepared from the salivary glands of fixed larvae. Salivary glands were stained with lactoacetocein. Sibling species were determined by the structure of chromosomes. Chromosomal inversions were recorded in karyotypes.

Results: Under conditions of warming, the boundaries of the areals of sibling species have changed. Southern mosquito *An. maculipennis* has moved far to the north, to Karelia and Komi, and also to the east from the Volga region to the Southern Urals. Fragmentation of the southern part of the areal was noted in the taiga species *An. beklemishevi*. Relative abundance of this species is everywhere reduced. Chromosomal composition of populations was rearranged in *An. messeae*. Mosquitoes with “southern” chromosome variants XL0, 2R0, 3R0 displace individuals with “northern” inversions XL4, 2R1, 3R1.

Conclusion: Thus, similar changes in the species and chromosome composition of malaria mosquitoes occurred in geographically remote regions of the European part of Russia. The same reorganization of the population-genetic structure of *An. messeae* was shown earlier in Western Siberia [2]. We have established that chromosome polymorphism in this species is associated with definite landscape-climatic zones [3]. In our opinion, the change in the genetic structure of mosquito populations reflects the initial stages of ecosystem transformation.

References

1. Stegnii V.N. (1991) Population Genetics and Evolution of Malaria Mosquitoes. Tomsk: Tomsk State University; 1-136.
2. Gordeev M.I., Ejov M.N. (2004) Global warming and variation in the chromosomal composition of Siberian malaria mosquito populations. *Doklady Biological Sciences*. 395:136–139.
3. Gordeev M.I., Moskaev A.V. (2016) Chromosomal polymorphism in the populations of malaria mosquito *Anopheles messeae* (Diptera, Culicidae) in the Volga Region, Rus. *J. Genetics*. 52:597–602.

ON SKELETAL CHANGES IN THE COURSE OF LONG-TERM SELECTION OF FOXES FOR BEHAVIOR

A.V. Kharlamova^{1*}, D.R. Carrier², K. Chase², A.V. Vladimirova¹, K.G. Lark², L.N. Trut¹

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

² University of Utah, Salt-Lake City, Utah, USA

*e-mail: kharlam@bionet.nsc.ru

Key words: foxes, domestication, aggression, selection for behavior, morphology, correlated responses

Motivation and Aim: During historical domestication of various animal species, their skeletal traits have undergone significant changes. The experiment on domestication of foxes has been underway in the Institute of Cytology and Genetics SB RAS for nearly 60 years, as well as a 40-year experiment on artificial selection for enhanced aggressiveness towards humans, with a comprehensive survey of all correlated effects. This short communication is a synopsis of changes in skeletal proportions reported at different stages of the experiment.

Methods and Algorithms: Craniological measurements in the foxes of experimental populations (tame and aggressive) and in the segregating back-cross progeny have been analyzed by multivariate statistical methods.

Results: At the earlier stages of the selection experiment (the 25th generation of selection for domestication) changes normally observed in historically domesticated animals, namely widening and shortening of the visceral cranium, were recorded in tame foxes [1]. In the segregating backcross-to-tame progeny from the tame progenitors of the 42d and aggressive progenitors of the 32d generations – correlation between cranial proportions and behavior was noted, however, the trend of this correlation was opposite – cranial bones of more aggressive back-crosses tend to be shorter and wider, whereas those of more friendly ones – longer and narrower. In the course of subsequent selection for behavior the zygomatic width of the foxes of the 43d generation of selection for aggressiveness, born in 2013, were found to be significantly larger than that of both unselected controls and tame individuals [2].

Conclusion: In the course of selection for behavior, craniofacial proportions of aggressive foxes tend to become closer to those typical for tame foxes at earlier stages of selection.

Acknowledgements: Research was supported by Budget Project #0324-2016-0002.

References

1. Trut L.N., Dzerzhinskii F.Ya., Nikol'skii V.S. (1991) Principal component analysis of craniological measurements in Silver fox (*Vulpes fulvus* Desm.) and their changes during domestication. *Genetika* (Moscow). 27(8):1440-1450.
2. Trut L.N., Kharlamova A.V., Vladimirova A.V., Herbeck Yu.E. (2017) On selection of foxes for enhanced aggressiveness and its correlated implications. *Rus. J. Genetics: Appl. Res.* 21(4):392-401.

RED FOX GENOME ASSEMBLY IDENTIFIES GENOMIC REGIONS ASSOCIATED WITH TAME AND AGGRESSIVE BEHAVIORS

A.V. Kukekova^{1*}, J.L. Johnson¹, X. Xiang², S. Feng², S. Liu², H.M. Rando¹, A.V. Kharlamova³, Yu. Herbeck³, N.A. Serdyukova⁴, Z. Xiong^{2,5}, V.R. Beklemisheva⁴, K.-P. Koepfli^{6,7}, R.G. Gulevich³, A.V. Vladimirova³, D.V. Shepeleva³, J.P. Hekman¹, P.L. Perelman^{4,8}, A.S. Graphodatsky^{4,8}, S.J. O'Brien^{8,9}, X. Wang¹⁰, A.G. Clark¹⁰, G.M. Acland¹¹, G. Zhang^{2,5,12}, L.N. Trut³

¹Animal Sciences Department, College of ACES, University of Illinois at Urbana-Champaign, IL 61801, USA

²China National Genebank, BGI -Shenzhen, 518083, Shenzhen, Guangdong, China

³Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

⁴Institute of Molecular and Cell Biology SB RAS, Novosibirsk, Russia

⁵State Key Laboratory of Genetic Resources and Evolution, Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming, China

⁶Smithsonian Conservation Biology Institute, National Zoological Park, Washington, DC 20008, USA

⁷Theodosius Dobzhansky Center for Genome Bioinformatics, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

⁸Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

⁹Guy Harvey Oceanographic Center, Halmos College of Natural Sciences and Oceanography, Nova Southeastern University, Ft Lauderdale, Florida 33004 USA

¹⁰Department of Molecular Biology and Genetics, Cornell University, Ithaca, NY 14853, USA

¹¹Baker Institute for Animal Health, Cornell University, College of Veterinary Medicine, Ithaca, NY 14853, USA

¹²Centre for Social Evolution, Department of Biology, University of Copenhagen, DK-2100 Copenhagen, Denmark

*e-mail: avk@illinois.edu

Key words: chromosome assembly, red fox genome, comparative genomics

Strains of red fox (*Vulpes vulpes*) with markedly different behavioral phenotypes have been developed in the famous long-term selective breeding program known as the Russian farm-fox experiment. Here we sequenced and assembled the red fox genome and re-sequenced a subset of foxes from the tame, aggressive, and conventional farm-bred populations to identify genomic regions associated with the response to selection for behavior. Analysis of the resequenced genomes identified 113 regions with either significantly decreased heterozygosity in one of the three populations or increased divergence between the populations. The regions identified as likely to have been under selection during fox domestication include genes implicated in human neurological disorders, in mouse behavior, and in dog domestication. The fox represents a powerful model for the genetic analysis of affiliative and aggressive behaviors that can benefit genetic studies of behavior in dogs and other mammals, including humans.

MOSAIC PATTERNS OF CRANIOFACIAL, DENTAL, AND POSTCRANIAL MORPHOMETRIC CHANGE IN RUSSIAN SILVER FOXES

S.D. Maddux^{1*}, E.K. Wood², T.E. Southard³, A.V. Kharlamova⁴, L.N. Trut⁴, R.G. Franciscus^{2,3}

¹ Center for Anatomical Sciences, University of North Texas, Texas, USA

² Department of Anthropology, University of Iowa, Iowa City, USA

³ Department of Orthodontics, University of Iowa, Iowa City, Iowa, USA

⁴ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

*e-mail: scott.maddux@unthsc.edu

Key words: self-domestication, skeletal morphology, human evolution

Motivation and Aim: In paleoanthropology, ‘self-domestication’ is increasingly regarded as a potential explanatory model for craniofacial evolution in *Homo sapiens*. This model posits that neotenuous craniofacial morphology among humans was an attendant outcome of selection for reduced aggression in response to increased demographic densities and/or social complexity. While research into early dogs and bonobos has generally supported the human ‘self-domestication’ hypothesis, the fox-farm experiments provide a valuable investigative resource as a controlled, long term study of behavioral and morphological coevolution.

Methods: We employed linear and 3D geometric morphometric measures of the cranium, dentition, and postcranial skeleton in sex-balanced samples from unselected (n = 50), tame (n = 50), and aggressive (n = 50) experimental fox strains. All measurements were taken directly on macerated, and fully cleaned skeletal and dental elements, affording a higher level of measurement accuracy relative to other protocols (e. g., radiographs).

Results: Both linear and geometric morphometric analyses indicate that tame foxes do not exhibit reduced facial lengths, even when scaled to postcranial size. Aggressive foxes were found to exhibit significantly broader faces than tame and unselected foxes. Dental size dimensions were found to be significantly reduced in tame foxes compared to unselected and aggressive foxes.

Conclusion: Contrary to expectations, tame fox skulls did not exhibit evidence of paedomorphic shifts (e. g., reduced facial lengths and relative craniofacial broadening). However, dental size reduction in the tame foxes does parallel a well-documented trend in human evolution. Further, in addition to aggressive foxes, broad faces also characterize pre-modern humans, and are associated with higher levels of circulating fetal testosterone in extant humans.

ON THE HUMAN NATURE (FOLLOWING IN THE STEPS OF D.K. BELYAEV)

A.L. Markel

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

e-mail: markel@bionet.nsc.ru

Key words: *humans, anthropogenesis, evolution, genome, culture*

This paper was inspired by some works of D.K. Belyaev in which he discussed the biosocial human nature, and is dedicated to the 100 year anniversary of Belyaev's birth. The main views and theories of the human nature and the main paths of genome and culture evolution during anthropogenesis are overviewed. The views of the leading past and present world-wide scientists on the basic principles of the genome-culture interactions are discussed. The seeming contradictions between "geneticists" and "sociologists" are resolved due to the development of the concept of co-evolution of the genome and culture. The evolution of genes and culture is a whole, but not separate processes. During their evolution, humans modify and reconstruct their sociocultural environment. The new environment creates new selection vectors and forms new ways and directions for genetic evolution. In response to the culture development, the genetic determination of human cognitive processes also changed. A good example of the co-evolution of culture and the genome is the development of human speech, the voice and mimic apparatus of communication. The vital importance of the new possibilities for social communication in human populations disposes to the fixation of genetic features that facilitate such communication. At the early stages of human evolution, the areas of the cerebral cortex that were responsible for the development of speech expanded and reorganized. The point of genome-culture co-evolution is well illustrated by niche construction theory. It is emphasized that the evolution of culture, which is widely regarded as a non-biological phenomenon, is quite similar in all its respects to the Darwinian process, as a result of which a sociocultural environment that is adaptive for a given community is formed through selection and transmission in a series of generations. In fact, we are talking about epigenetic inheritance in the evolution of culture and morality. The review details the views and theoretical concepts of geneticists, sociologists, social psychologists, anthropologists, behaviorists and ethologists in explaining the phenomenon of human evolution. Some contradictions caused by different rates of evolution of culture and genome are considered. In conclusion, it is shown that Belyaev's interpretation of the biosocial nature of humans finds confirmation in modern studies by geneticists, sociologists and psychologists.

THE EXPRESSION OF GAD2, DRD2, CACNA1B AND OXT GENES AND THEIR CONTRIBUTION IN AGGRESSIVE BEHAVIOR

E.P. Mazurina^{1,2*}, K.A. Tabanyuhov^{1,2}, I.V. Chadaeva², R.V. Kozhemyakina², N.V. Klimova²

¹ Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia

² Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

*e-mail: elismazurina@gmail.com

Key words: aggressiveness, behavior, gene expression, gray rat

Motivation and Aim: Aggressive behavior is one of the important social problems having biological roots. The purpose of our study was to study the mechanisms of hereditary-mediated aggressive behavior on laboratory animal models. To establish mechanisms of aggression at the molecular level, we used unique experimental model of grey rats (*Rattus norvegicus*) developed at the Institute of Cytology and Genetics SB RAS. Rats have been subjected to selection in two directions – friendly, tolerant behavior towards human and other rats and aggressive behavior. We evaluated the expression of several genes in rat brain areas, presumably associated with the manifestation of aggressive behavior: GAD2, DRD2, Cacna1b and Oxt. These genes were studied earlier in the literature in relation to human neurological diseases. GAD2 encodes one of several forms of glutamic acid decarboxylase – widespread inhibitory neurotransmitter. DRD2 encodes the dopamine receptor subtype 2. Dopaminergic transmission is associated with motivation, learning and cognition. Cacna1b encodes the protein which is the pore-forming subunit of an N-type voltage-dependent calcium channel that controls neurotransmitter release from neurons. Oxt encodes the precursor of oxytocin and neurophysin 1. Oxytocin is associated with complex social behavior and associated neuropsychic disorders.

Methods and Algorithms: RNA-seq sequencing of rat brain areas samples was done using Illumina HiSeq. The set of computer tools and data processing pipelines helped to find genes and gene regulation patterns applied to behavior models. RNA-profiling experiments revealed the lists of differentially expressed genes in the brain samples and differentially spliced isoforms. Gene expression level of the genes under study was tested by RT-PCR.

Results: Transcriptome profiling, as well as RT-PCR confirmed differential gene expression of GAD2, DRD2, Cacna1b and Oxt in rat samples differing by behavior. A lot of synapse associated genes have statistically significant deviation in splicing depending on brain regions and behavioral models (aggressive/tame) of rats. It is a new phenomenon of the transcriptome data in studying of aggressive behavior.

Conclusion: Heredity has been found to significantly contribute to aggressiveness in studies of various animal species. Consequently, the genetic factors exert a strong influence to the phenotypic variation of aggressive behavior in populations. This is confirmed by inter-strain differences in the manifestation of aggression in laboratory animals and by the fast progress of selection for aggressiveness traits.

Acknowledgements: Authors acknowledge ICG SB RAS budget project (0324-2016-0008) and RSF.

MOLECULAR GENETICS OF THE ADRENOCORTICAL AXIS AND BREEDING FOR ROBUSTNESS

P. Mormede*, E.E. Terenina

*INRA UMR1388 Laboratory of Livestock Genetics, Physiology and Breeding (GenPhySE),
Castanet-Tolosan, France*

**e-mail: pierre.mormede@inra.fr*

Key words: *HPA axis, robustness, animal selection, animal welfare*

The concept of robustness refers to the combination of a high production potential and a low sensitivity to environmental perturbations. The importance of robustness-related traits in breeding objectives is progressively increasing toward the production of animals with a high production level in a wide range of climatic conditions and production systems, together with a high level of animal welfare. Current strategies to increase robustness include selection for “functional traits”, such as skeletal and cardiovascular integrity, disease resistance, and mortality at various stages. It is also possible to use global evaluation of sensitivity to the environment (e. g. reaction norm analysis or canalization), but these techniques are difficult to implement in practice. The glucocorticoid hormones released by the adrenal cortex exert a wide range of effects on metabolism, the cardiovascular system, inflammatory processes, and brain function, for example. Protein catabolism toward energy production and storage (lipids and glycogen) supports their pivotal role in stress responses aiming at the adaptation and survival of individuals under strong environmental pressure. Large individual variations have been described in adrenocortical axis activity, with important physiopathological consequences. In terms of animal production, higher cortisol levels have negative effects on growth rate and feed efficiency and increase the fat:lean ratio of carcasses. On the contrary, cortisol has positive effects on functional traits and adaptation. Intense selection for lean tissue growth and more generally high protein output during the past decades has concomitantly reduced cortisol production, which may be responsible for the negative effects of selection on functional traits. In this paper, we review experimental evidence suggesting that the balance between production and functional traits was modified in favor of improved robustness by selecting animals with higher adrenocortical axis activity, as well as the molecular genetic tools that can be used to fine-tune this objective.

MORPHOMETRICS AND EVOLUTION: THE CHALLENGE OF CROSSING RUGGED PHENOTYPIC LANDSCAPES WITH STRAIGHT PATHS

P.D. Polly

School of Biological Sciences, Queen Mary, University of London, London E1 4NS, United Kingdom

e-mail: d.polly@qmul.ac.uk

Key words: *geometric morphometrics, mollusc shells, phenotypic evolution, phylogenetic comparative methods, semilandmarks*

Geometric morphometrics is widely used to study underlying causal factors in phenotypic evolution and to reconstruct evolutionary history of phenotypes. However, non-linearities in the phenotypic landscape may exist such that analytical solutions derived from comparison of phenotypes in morphospace may have complex or contradictory relationships in the space of the underlying factors.

Ancestral reconstruction of horn morphology based on two mammalian ungulates illustrates how biologically improbable results can arise from the mathematical properties of geometric morphometric morphospaces. Raup's shell coiling equations are used to illustrate the potential for contradictory conclusions to be drawn from ancestral reconstructions in parameter spaces (such as measurements of levels of gene expression or allele frequencies) versus shape spaces (such as morphospaces based on phenotypic analysis). These examples are generalizable to many real morphometric studies, suggesting that care should be taken when drawing conclusions about genetic, developmental, or environmental processes based on morphometric analyses.

Dense sampling of shape space and the use of fully multivariate and, perhaps, non-linear methods can help forestall potential problems.

HIGH MUTATION RATE IN SAKHALIN *DROSOPHILA MELANOGASTER* NATURAL POPULATION

M.A. Voloshina

Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

e-mail: m.voloshina@g.nsu.ru

Key words: genetic instability, *Drosophila melanogaster*, lozenge, white

Motivation and Aim: The study of concentration of visible mutations and mutation rate in an island natural population of *D. melanogaster*.

Methods and Algorithms: The flies were collected in nature for three years (2014–2016) and genetic diversity was estimated in isofemale stocks (funded from single female). The rate of *de novo* mutations was scored in original stocks. The further analysis of unstable loci performed in original genetic background, but in some cases balancer laboratory stocks were involved.

Results: The concentration of visible mutations was high – 62–66 % of isofemale stocks contained at least one mutation, when average value for most populations is around 20 %. The spectrum of mutant phenotypes varied highly in different years. (Each year 100–200 isofemale stocks were analyzed.)

In 7–10 % of stocks mutations appeared *de novo* have been registered: X-linked (*white*, *lozenge*, *singed*, *forked*, *furrowed*, *rudimentary*, *dusky*, *yellow*, *Notch*) and autosomal dominant (Delta and some not identified genes). Part of new mutations of *lz*, *w*, *sn* and *fw* loci turned out to be unstable. The instability of *lz* mutants reached up to 10^{-3} , and in some cases 10^{-2} . One of autosomal dominant wing mutations was shown to be unstable too. It is important that instability was observed not only in crosses to laboratory stocks, but in original genetic background as well. Some mutants were somatic mosaics.

Most of crosses of wild males to laboratory stocks showed high level of sterility of first generation. In following generations the fertility partially restored.

Conclusion: The island population of Sakhalin is characterized with high level of genetic heterogeneity and genetic instability. We suppose that it reflects high migration rate. The unstable state of new mutations is probably a marker of presence of active transposable elements of unknown class in this population.

Availability: The results make contribution to understanding of microevolutionary genetic processes in island populations.

Acknowledgements: The work was funded by the budget project #0324-2016-0002.

EXAMINING TWO DEVELOPMENTAL HYPOTHESES ON THE “DOMESTICATION SYNDROME” FROM GENOMIC DATA

A.S. Wilkins

Institute of Theoretical Biology, Humboldt Universität zu Berlin, D-10115 Berlin, Germany

e-mail: wilkins316@btinternet.com

Key words: *animal domestication, “domestication syndrome”, Charles Darwin, comparative genomics, neoteny, neural crest cells, thyroid metabolism*

Domesticated mammals exhibit a widely shared set of morphological and physiological traits not seen in their wild forebears. These features have been termed the “domestication syndrome” (DS). Experimental domestication by Dmitry Belyaev and his colleagues showed that the DS tends to arise in close conjunction with selection for increasing tameness, hence that it is a product of the domestication process itself. In recent years, two developmental hypotheses have been put forward to explain its origins. The first idea, proposed in 2002, posited that changing thyroid hormone metabolism in early development was at the root of the phenomenon. The second, published in 2014, argued that changes in neural crest cell biology were responsible. These two ideas make very different genetic predictions and can, therefore, be tested from genomic data comparisons of domestic breeds and their corresponding wild relatives. Recent genomic data from cats, rabbits, dogs and horses will be discussed and evaluated here with respect to the two ideas. In addition, the possible relevance of recent findings to the question of whether humans can be considered a “self-domesticated” species will be considered.

HARD TISSUE PATTERNS OF CHANGE IN RUSSIAN SILVER FOXES: THE DENTITION

E.K. Wood¹, S.D. Maddux², T.E. Southard³, A.V. Kharlamova⁴, L.N. Trut⁴,
R.G. Franciscus^{1, 3*}

¹ Department of Anthropology, University of Iowa, Iowa City, USA

² Center for Anatomical Sciences, University of North Texas, Texas, USA

³ Department of Orthodontics, University of Iowa, Iowa City, Iowa, USA

⁴ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

*e-mail: robert-franciscus@uiowa.edu

Key words: canine teeth, premolars, molars, dental size reduction, human evolution

Motivation and Aim: Paleoanthropologists have long emphasized dental size reduction in hominin evolution. Reduced canine crown dimensions in humans are linked with greater male cooperative behavior compared to primates that exhibit high inter-male aggression. Moreover, arguments for ‘self-domestication’ in both early dogs and bonobos are based, in part, on empirical patterns of dental size reduction from ancestral forms. Russian silver foxes provide an untapped source for studying this evolutionary dynamic because they provide a controlled, long term study of selection for non-aggressive behavior and attendant morphological consequences. Yet, dental size variation among Russian silver foxes has not been heretofore studied.

Methods: We employed univariate and multivariate comparisons of maxillary (M-D length, B-L breadth; canine crown height) and mandibular dentition (M-D length, B-L breadth). These data were collected in sex-balanced samples of unselected (n = 50), tame (n = 50), and aggressive (n = 50) individuals. All measurements were taken directly on macerated, and fully cleaned elements. This afforded a high level of measurement accuracy (0.05 mm) relative to other protocols such as measurements taken on radiographs.

Results: Consistent with expectations from the ‘self-domestication’ model, tame fox skulls exhibited reduced tooth dimensions in virtually all comparisons relative to both unselected and aggressive individuals. This result was most pronounced for the canine teeth, especially in females.

Conclusion: These previously undocumented results in domesticated foxes parallel well-documented trends in dental reduction in humans, dogs, and bonobos. Accordingly, these results appear to further support the self-domestication hypothesis, and highlights the utility of dentition as a morphological indicator of reduced aggression.

GENETIC INSTABILITY IN THE SAKHALIN-2014 *DROSOPHILA MELANOGASTER* NATURAL POPULATION IS NOT THE MANIFESTATION OF P-M HYBRID DYSGENESIS

L.P. Zakharenko^{1, 2*}, M.A. Voloshina^{1, 2}

¹Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

²Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

*e-mail: zakharlp@bionet.nsc.ru

Key words: hybrid dysgenesis, genetic instability, *Drosophila melanogaster*

Motivation and Aim: The reason of spontaneous genetic instability in the natural *Drosophila melanogaster* populations is not completely understood. It is believed that the active movement of *P* transposon (one of the most active mobile element that appeared in the *Drosophila melanogaster* genome by horizontal transfer in the middle of the last century and quickly spread across continents) may induce so called hybrid dysgenesis that realizes in different genetic disorders.

Methods and Results: The monitoring of the Sakhalin-2014 *Drosophila melanogaster* population reveals strains with increased frequency of visible mutations that appear *de novo*. Some of these mutations were unstable. In addition, crossing males of such unstable strains with females with linked X-chromosomes C (1) DX, ywf always led to the appearance of sterile offspring. The increased sterility of females in intraspecific crosses of some pairs of *Drosophila melanogaster* strains is often associated with the movement of the *P* transposon. It is believed that the active movement of the *P* elements across the genome induce hybrid dysgenesis that manifests in one cross-directions at the elevated temperature. The testing of unstable strains from the Sakhalin population by crossing with the reference for hybrid dysgenesis strains (CantonS and Harwich) showed a high percentage of sterility of hybrid females. However, the sterility of F1 females was observed in direct and reciprocal crosses, and did not depend on the temperature. FISH analysis did not reveal traces of *P* elements in the loci where the *de novo* mutations appeared. A large number of chromosomal rearrangements between homologues have been revealed on the polytene chromosomes of the larval salivary glands.

Conclusion: Our analysis indicates that a possible cause of sterility of intraspecific hybrids between laboratory and natural strains from the Sakhalin-2014 population may be an increased genetic heterogeneity of the crossed strains leading to the appearance of unbalanced genomes. The high frequency of the appearance of visible mutations is also hardly connected with element transposition.

Acknowledgements: The work was funded by the budget project #0324-2016-0002.

Секция

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ГЕНЕТИКА И ЭПИГЕНЕТИКА

Session

PHYSIOLOGICAL GENETICS AND EPIGENETICS

ГЕН СУБСТРАТА ИНСУЛИНОПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА, *CHICO*, РЕГУЛИРУЕТ МЕТАБОЛИЗМ ОКТОПАМИНА У *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Н.В. Адоньева*, Е.В. Бурдина, И.Ю. Раушенбах, Н.Е. Грунтенко

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: nadon@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: *Drosophila*, инсулиновый сигнальный путь, октопамин, приспособленность

Октопамин, один из основных биогенных аминов насекомых, играет важную роль в контроле приспособленности *Drosophila*. В настоящей работе мы исследовали влияние нуль-мутации гена субстрата инсулиноподобного рецептора, *chico*¹, в гетерозиготном состоянии на метаболизм октопамина, устойчивость к тепловому стрессу и плодовитость самок *D. melanogaster*. Мы установили, что у самок *chico*^{1/+} наблюдается повышение активности ключевого фермента синтеза октопамина, тирозиндекарбоксилазы и активности фермента его деградации, октопамин-зависимой N-ацетилтрансферазы. Мы также обнаружили, что у самок *chico*^{1/+} снижена устойчивость к тепловому стрессу и резко снижена плодовитость. Ранее мы показали, что повышение уровня октопамина вызывает у самок *Drosophila* подобные изменения исследованных параметров. Последнее предполагает, что ген *chico* влияет на уровень октопамина, регулируя активность тирозиндекарбоксилазы.

ПОЛУЧЕНИЕ МЕЧЕННОГО ТРИТИЕМ ЮВЕНИЛЬНОГО ГОРМОНА И РАДИОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ УРОВНЯ ЕГО ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА

А.А. Алексеев^{1*}, И.В. Романова², В.А. Рихтер², Н.Е. Грунтенко³, Е.К. Карпова³

¹ Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского СО РАН, Новосибирск, Россия

² Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

³ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: alexb954@mail.ru

Ключевые слова: ювенильный гормон, тритий, ЮГ-эстераза, *Drosophila*, *Galleria*

Ювенильный гормон (ЮГ) является одним из ключевых гормонов насекомых, он участвует в регуляции роста, развития и метаморфоза насекомых. Кроме того, ЮГ играет важную роль в контроле жизненно важных процессов в развитии и функционировании насекомых: синтезе феромонов, половом поведении самок, контроле развития яичников и откладки яиц; участвует в кастовой детерминации у социальных насекомых; регуляции диапаузы, фазового полиморфизма, миграционной активности, адаптаций к стрессу [1].

Концентрации самого ЮГ в организме насекомых крайне малы, поэтому в качестве основного метода оценки его уровня используют радиометрическую методику количественного измерения суммарной активности ферментов катаболизма по скорости гидролиза [³H]-ЮГ [2]. Целью работы была разработка метода получения меченного тритием ЮГ для использования в радиометрической методике количественного определения активности специфических ферментов гидролиза ЮГ. Разработан метод мечения термически активированным тритием ювенильного гормона насекомых. Разработана система хроматографической очистки меченого препарата, которая позволяет получать ЮГ с требуемыми параметрами качества. При этом выход меченого препарата составил до 15 % в расчете на исходный немеченый продукт, удельная активность препарата составляла до 2.2 Ки·ммоль⁻¹, радиохимическая чистота 95 %. Показано, что полученный [³H]-ЮГ может использоваться в радиометрической методике количественного анализа активности специфических ферментов гидролиза ЮГ у имаго *Drosophila* и в гемолимфе гусениц *Galleria mellonella*.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-04-00060.

Список литературы

1. Nijhout H.F. (1994) Insect hormones. Princeton, New Jersey: Princeton Univ. Press; 260.
2. Hammock B.D. (1985) Regulation of juvenile hormone titer: degradation. In: *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology* (Eds. G.A. Kerkut, L.I. Gilbert). Oxford: Pergamon Press; 7:431-472.

РЕОРГАНИЗАЦИЯ СТРЕССОВОЙ И ПОЛОВОЙ ФУНКЦИЙ В ХОДЕ СЕЛЕКЦИИ НА КАТАТОНИЮ У КРЫС

Т.А. Алехина*, Д.В. Клочков, О.И. Прокудина

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: alek@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: модель кататонии, «нервность», адrenaловая система, синхронизация, эстральный цикл, прогестерон

Мотивация и цель: При осуществлении отбора по поведению мы наблюдаем прямой селективный эффект (на каталептическое застывание в линии ГК) и одновременно влияем на неспецифические функции – стрессовую и половую. При этом, в селектируемой линии ГК (Генетические Кататоники) появились новые поведенческие признаки – «нервные» реакции. Цель настоящей работы – зафиксировать изменения параметров в стрессовой и половой системах у «нервных» крыс ГК по сравнению с таковыми из исходной популяции Вистар.

Методы: Провокация каталептических и нервных реакций; тест «на перчатку», корреляционный анализ по Спирману; взятие влагалищных мазков, определение прогестерона иммуно-ферментным методом (ХЕМА).

Результаты: «Нервность» у крыс ГК выражается в повышенной пугливости, вокализации, пароксизмальных побежках, в агрессивном поведении по отношению к человеку [1]. Подтверждено направление изменчивости реакций адаптации в ходе селекции крыс линии ГК через надпочечниковую систему; в то время же у контрольных крыс Вистар прослеживается наиболее четкая взаимосвязь между стрессорными и весовыми параметрами в сердечно-сосудистой и почечной системах. Выявлено уменьшение общего числа фолликулов в проэструсе и диэструсе в 3-месячном возрасте, более низкая частота эструсов и диэструсов в возрасте 6–12 месяцев, при старении (в возрасте 18 месяцев) значительное сокращение числа растущих и созревающих фолликулов [2]. При этом был отмечен повышенный уровень синхронизации фаз эстрального цикла у самок крыс линии ГК. Также показано, что на стадии проэструса наблюдалось повышение уровня прогестерона в общей группе несинхронизированных и синхронизированных животных кататонической линии [3].

Заключение: Установлено, что «нервность» у крыс линии ГК является наследственно закрепленным признаком с сопутствующими изменениями параметров в стрессовой и половой системах.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№ 17-04-01631) и бюджетного проекта (№ 0324-2016-0002).

Список литературы

1. Алехина и др. (2016). Признаки дестабилизации при отборе на кататонию, проявляющиеся в изменении поведенческих и соматовегетативных параметров у крыс. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 20(1):28-34.
2. Клочков и др. (2009) Моноамины и функция яичников, селектированных на усиление кататонической реактивности. *Журн. эвол. биохим. физиол.* 45(3):329-33.
3. Алехина и др. (2015). Синхронизация эстрального цикла на фоне состояния повышенной возбудимости крыс, селектированных по кататоническому типу реагирования. *Бюл. exper. биол. мед.* 159(1):83-86.

ПРИМЕНЕНИЕ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ КОШАЧЬИХ *EX SITU*

С.Я. Амстиславский^{1*}, В.И. Мокроусова¹, В.В. Кожевникова¹, Е.Ю. Брусенцев¹,
Е.А. Кизилова¹, Т.О. Абрамова¹, И.Н. Рожкова¹, К.А. Окотруб², С.В. Найденов³

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Институт автоматики и электрометрии СО РАН, Новосибирск, Россия

³ Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

*e-mail: amstis@yandex.ru

Ключевые слова: кошачьи, криоконсервация гамет и эмбрионов, ЭКО, культивирование *in vitro*, комбинационное рассеяние света

Мотивация и цели: Многие из существующих видов кошачьих находятся под угрозой исчезновения или уязвимы. Замораживание семени было успешно применено к домашней кошке и более чем к 25 диким представителям этого семейства. Однако криоконсервация эмбрионов и ооцитов была успешной для небольшого числа видов кошек. В отношении ооцитов разные способы замораживания и криоконсервации до сих пор экспериментально отрабатываются лишь на домашней кошке. Целью работы являлось создание криобанка эмбрионов и гамет кошачьих, а также разработка пакета репродуктивных технологий, применимого для сохранения генетических ресурсов как домашней кошки, так и диких видов кошачьих.

Методы и алгоритмы: Эпидидимальное семя и ооциты домашней кошки получали из клиник г. Новосибирска, семя дальневосточного лесного кота, красной и еurasийской рыси получали на экспериментальной станции ИПЭЭ РАН им. А.Н. Северцова и замораживали с использованием CaniPlus Freeze либо SpermFreeze. Эмбрионы получали путем гомо- или гетерологического ЭКО, культивировали *in vitro* и криоконсервировали разными способами. Для исследования жизнеспособности семени, эмбрионов и ооцитов применяли различные методы световой, флуоресцентной и конфокальной микроскопии, а также рамановской спектроскопии.

Результаты: Усовершенствованы и разработаны оригинальные методы замораживания семени кошачьих. Успешно заморожены эмбрионы домашней кошки, также разрабатываются подходы к замораживанию ооцитов кошачьих. В работе с эмбрионами и гаметами кошачьих применялись как биологические, так и физические методы. Путем гетерологического ЭКО получены *in vitro* гибридные эмбрионы между домашней кошкой и дальневосточным лесным котом.

Заключение: В ИЦиГ СО РАН создан криобанк генетических ресурсов, содержащий замороженные образцы семени дальневосточного лесного кота, красной и еurasийской рыси, а также семя, ооциты и эмбрионы разных пород домашней кошки.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 15-04-03258).

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ РАЗВИТИЯ ОЖИРЕНИЯ В СРЕДНЕМ ВОЗРАСТЕ У МЫШЕЙ

Н.М. Бажан^{1,2*}, А.В. Бакланов¹, Ю.В. Пискунова², А.Ю. Казанцева¹

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*e-mail: bazhan-nm@yandex.ru

Ключевые слова: углеводно-жировой обмен, экспрессия генов, мыши C57Bl6/J, постнатальное развитие, мышцы, жировая ткань

Мотивация и цели: В популяции человека и животных в среднем возрасте повышается риск развития ожирения и связанных с ним заболеваний. Белый, бурый жир и мышцы являются основными органами, которые контролируют углеводно-жировой обмен. Не исследован вклад этих органов в развитие ожирения в среднем возрасте. Цель работы – изучить у мышей на этапах постнатального развития, предшествующих среднему возрасту, показатели липидного обмена на уровне целого организма и на уровне транскрипции отдельных генов в белой, бурой жировой ткани и в мышцах.

Методы: Исследовали самцов мышей C57Bl/6J в возрасте 10 недель – молодой возраст, 15 недель – взрослый возраст и 30 недель – средний возраст. Методом ПЦР в реальном времени измеряли уровень мРНК генов белков, контролирующих окисление свободных жирных кислот (СЖК) (uncoupling protein 3 – UCP3; carnitine palmitoyltransferase 1 – CPT1) и захват глюкозы (glucose transporter type 4 – Glut4), в мышцах; запасание триглицеридов (ТГ) (hormone-sensitive lipase – HSL; lipoprotein lipase – LPL) и захват глюкозы (Glut4) в белом жире, а также расход энергии (uncoupling protein 1 – UCP1) в буром жире. Измеряли толерантность к глюкозе.

Результаты: Увеличение массы тела от молодого до взрослого возраста не ассоциировалось с увеличением доли жировой ткани, но ассоциировалось с признаками активации липолиза ТГ в белом жире (повышением уровня мРНК *HSL*) и окисления СЖК в мышцах (повышением уровня мРНК *CPT1* и *UCP3*). Дальнейшее увеличение массы тела от взрослого до среднего возраста ассоциировалось с повышением доли жировой ткани, уровней ТГ и СЖК в крови, со снижением толерантности к глюкозе, а также с признаками снижения интенсивности липолиза ТГ в белом жире (снижение уровня мРНК *HSL*) и окисления СЖК в мышцах (снижение уровня мРНК *CPT1* и *UCP3*).

Заключение: Полученные результаты предполагают, что у мышей интенсивность липолиза в белом жире и окисления СЖК в мышцах изменяется в ходе постнатального развития – наиболее высокая во взрослом возрасте и снижается к среднему возрасту. Это ассоциируется с нарушением как углеводного (снижение толерантности к глюкозе), так и жирового обмена (увеличение уровня СЖК, ТГ в крови и накопление жира) и способствует развитию у мышей среднего возраста ожирения, несмотря на потребление ими сбалансированного лабораторного корма.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке бюджетного проекта № 0324-2016-0004.

ВЛИЯНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДОМЕСТИКАЦИИ СЕРЕБРИСТО-ЧЕРНЫХ ЛИСИЦ (*VULPES VULPES*) НА ВОКАЛЬНОЕ ПОВЕДЕНИЕ

С.С. Гоголева¹, И.А. Володин^{1,2*}, Е.В. Володина², А.В. Харламова³, Л.Н. Трут³

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

²Московский государственный зоологический парк, Москва, Россия

³ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: volodinsvoc@gmail.com

Ключевые слова: экспериментальная domestикация лисиц, вокальный репертуар, коммуникативное поведение, позитивные и негативные эмоции, взаимодействие человек–животное, эмоциональное возбуждение, акустические параметры

Обобщен цикл исследований структуры звуков и вокального поведения серебристо-черных лисиц, различающихся по характеру реагирования на человека. Показано, что селекция в течение 50 лет на ручное поведение к человеку привела к избирательному использованию Ручными лисицами по отношению к людям двух типов звуков, кудахтанья и шумного дыхания. При этом селекционированные на агрессию к людям Агрессивные и неселекционированные Контрольные лисицы, в свою очередь, избирательно используют по отношению к людям такие звуки, как кашель и фыркание. Таким образом, выявлены типы звуков, являющиеся вокальными индикаторами дружелюбного и агрессивного поведения лисиц по отношению к человеку. Однако domestикация не изменяет вокального поведения лисиц по отношению к другим лисицам, все три группы не различаются по вокальному поведению, адресованному конспецификам. Исследована связь вокального поведения со степенью толерантности по отношению к человеку у гибридов первого поколения от скрещивания между Ручными и Агрессивными лисицами и беккроссов на Ручных и Агрессивных лисиц. Оценен эффект пола лисиц и степени воздействия со стороны человека на параметры вокального поведения. В результате исследований были обнаружены универсальные для млекопитающих вокальные индикаторы степени эмоционального возбуждения, не зависящие от знака эмоций. Выявлены характеристики вокального поведения, связанные со знаком эмоций, позитивным или негативным. Разработан простой и эффективный метод оценки уровня дискомфорта животного на основе «слитых звуков», которые учитывают характеристики всех звуков, изданных животным независимо от структуры этих звуков. Полученные результаты служат основой для дальнейших сравнительных исследований акустической структуры и вокального поведения других представителей рода *Vulpes* и других близких родов псовых (*Canis*, *Cuon*, *Lycan*).

УЧАСТИЕ ИНСУЛИНОВОГО СИГНАЛЬНОГО ПУТИ В НЕЙРОГОРМОНАЛЬНОЙ СТРЕСС-РЕАКЦИИ (НА МОДЕЛИ *DROSOPHILA MELANOGASTER*)

Н.Е. Грунтенко*, И.Ю. Раушенбах

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: nataly@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: *Drosophila*, инсулиновый сигнальный путь, ювенильный гормон, дофамин, октопамин, тепловой стресс

Элементами эндокринной реакции на стресс у дрозофилы являются биогенные амины (дофамин и октопамин), ювенильный гормон (ЮГ), 20-гидроксиэкдизон (20Э) и инсулиноподобные факторы роста (ИФР). Большинство изменений в сигнальном пути ИФР и гормональном статусе дрозофилы, возникающих в неблагоприятных условиях, являются универсальными и не зависят от характера стрессирующего воздействия. Влияние различных элементов сигнального пути ИФР, таких как инсулин-подобный рецептор, гомолог его субстрата, CHICO, транскрипционный фактор dFOXO и инсулиноподобный пептид 6, на гормональный статус дрозофилы предполагает наличие ИФР-регуляции метаболизма катехоламинов, реализуемого через сигнальный путь ЮГ. Существует обратная связь во взаимодействии ЮГ и ИФР: ЮГ выполняет функцию позитивного регулятора сигнального пути ИФР, тогда как последний негативно регулирует уровень ЮГ. По крайней мере один из механизмов участия ИФР в контроле стресс-устойчивости дрозофилы опосредуется через сигнальные системы ЮГ и дофамина.

ВЛИЯНИЕ ОТБОРА ПО ПОВЕДЕНИЮ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ГИППОКАМПА У ВЗРОСЛЫХ СЕРЫХ КРЫС ПОСЛЕ РАННЕЙ СОЦИАЛЬНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ

Р.Г. Гулевич*, А.Е. Акулов, С.Г. Шихевич, Р.В. Кожемякина, И.Ф. Плюснина
ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: gulevich@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: агрессивность, отбор, крысы, гиппокамп, объем, метаболиты

Цель исследования: В результате многолетнего отбора серых крыс на отсутствие и усиление агрессивной реакции на человека созданы популяции животных с ручным и агрессивным поведением, которые отличаются по широкому спектру поведенческих и физиологических параметров. У ручных самцов, в частности, отмечали ослабление внутривидовой агрессии в тестах «резидент–интродер» и на нейтральной территории по сравнению с агрессивными. Показано, что под влиянием социальной нестабильности в подростковом периоде у агрессивных крыс в зрелом возрасте понижается реакция на стресс. Целью данной работы было исследование влияния отбора по поведению и ранней социальной нестабильности в подростковом периоде на объем гиппокампа и основные метаболиты в дорзальном гиппокампе у зрелых ручных, агрессивных и неселекционированных самцов крыс. *Методы:* Исследования проводили на горизонтальном томографе с напряженностью магнитного поля 11.7 Тесла (Bruker, BioSpec 117/16 USR, Германия). Экспериментальных самцов из одной и той же группы, но разных пометов на 19-й день жизни отсаживали от матери и попарно помещали в одну клетку. На следующий день и в течение последующих 5 дней одного из партнеров пересаживали в соседнюю клетку, а затем самцы до 3-месячного возраста сидели в клетках попарно. В контрольной группе крысят в 30-дневном возрасте отсаживали от матери и помещали в одну клетку по 4–5 самцов.

Результаты: По объему гиппокампа агрессивные самцы уступали ручным. В дорзальном гиппокампе у агрессивных животных найдено пониженное содержание гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) – основного трансммиттера торможения, а также N-ацетиласпартата и производных холина по сравнению с ручными самцами. Тогда как содержание аспартата (одного из трансммиттеров возбуждения в глутаматергических синапсах) и фосфоориозтаноламина (ФЭА) у агрессивных крыс было выше, чем у ручных. У взрослых агрессивных самцов из экспериментальной группы отмечали пониженное содержание таурина, ФЭА и аспартата по сравнению с контрольными животными.

Заключение: Под влиянием отбора на агрессивное поведение у самцов крыс уменьшается объем гиппокампа, а также изменяется фосфолипидный метаболизм и усиливаются процессы возбуждения в дорзальном гиппокампе по сравнению с ручными животными. Вызванные условиями ранней социальной нестабильности сдвиги в содержании нейрометаболитов в дорзальном гиппокампе у зрелых агрессивных крыс относительно контрольных животных могут быть связаны с пониженной реакцией на стресс, наблюдаемой у этих животных ранее.

Благодарности: Исследования проведены в рамках бюджетного проекта № 0324-2016-0002.

ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ НАТРИЙУРЕТИЧЕСКОЙ ФУНКЦИИ ПОЧКИ КРЫС СО СТРЕСС-ИНДУЦИРУЕМОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ (ЛИНИЯ НИСАГ)

А.Д. Дубинина*, А.Л. Маркель, Л.Н. Иванова

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: dubinina_anastas@mail.ru

Ключевые слова: артериальная гипертония, простагландины, линия крыс НИСАГ

Мотивация и цели: Характерной особенностью функции почек при клинической и экспериментальной гипертонии является более выраженная натрийуретическая реакция (“exaggerated natriuresis”) на солевые нагрузки [1], механизм которой до сих пор не выявлен. Целью данной работы было оценить роль простагландинов в развитии натрийуретической реакции на функциональные солевые нагрузки на модели гипертензивных крыс.

Методы: Исследование выполнено на крысах с наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертонией линии НИСАГ и нормотензивных крысах линии WAG. Натрийуретическую функцию почек оценивали в условиях внутрижелудочного введения изотонического 0.9%-го или гипертонического 2%-го растворов хлорида натрия (5 % от веса тела) на фоне введения диклофенака (5 мг/кг, в/м) или физиологического раствора (0.4 мл/кг, в/м).

Результаты: В условиях солевых нагрузок у крыс НИСАГ эффективность выведения жидкости и натрия с мочой была выше по сравнению с крысами WAG. При изотонической нагрузке у крыс НИСАГ наблюдалась более выраженная натрийуретическая реакция вследствие торможения реабсорбции натрия в почечных канальцах. В то же время межлинейные различия эффективности выведения гипертонической нагрузки были обусловлены не интенсивностью реакции, а динамикой ее развития, которая определялась изменением скорости клубочковой фильтрации. Введение диклофенака, ингибитора циклооксигеназы, нивелировало межлинейные различия динамики изменения клубочковой фильтрации и, как следствие, интенсивности выведения гипер-, но не изотонической нагрузки.

Заключение: У гипертензивных крыс НИСАГ повышена эффективность выведения солевых нагрузок. Блокада синтеза простагландинов нивелировала межлинейные различия натрийуретической реакции только на гипертоническую нагрузку благодаря влиянию на динамику изменения скорости клубочковой фильтрации.

Благодарности: Работа поддержана бюджетным финансированием по государственному заданию (проект № 0324-2015-0014) и РФФИ (проект № 16-04-00763).

Список литературы

1. Дубинина А.Д. и др. (2016) Особенности реакции почки крыс со стресс-индуцируемой гипертонией (линия НИСАГ) на изотоническую нагрузку хлоридом натрия. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. 102(1):56-66.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГОРМОНАЛЬНОЙ СТИМУЛЯЦИИ САМОК СОБОЛЕЙ КЛЕТОЧНОГО СОДЕРЖАНИЯ РАЗНОГО ВОЗРАСТА

А.А. Зотова¹, Е.А. Орлова^{1*}, Т.М. Чекалова², Л.А. Сулимова³

¹Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К.И. Скрябина, Москва, Россия

²НИИ пушного звероводства и кролиководства им. В.А. Афанасьева, Московская область, Россия

³Племенной зверосовхоз «Салтыковский», Московская область, Россия

*e-mail: l-orlova@bk.ru

Ключевые слова: соболев, молодые самки, воспроизводство, гормональная стимуляция

Мотивация и цели: Одной из главных проблем клеточного соболеводства является повышение воспроизводительной способности самок 1–3-летнего возраста. Возможным решением этой проблемы является гормональная их стимуляция, все более широко применяемая в звероводстве.

Методы и алгоритмы: Материалом для исследований послужили зоотехнические данные по гону самок соболей 1–3-летнего возраста ОАО «Племенной зверосовхоз «Салтыковский» Московской области. Были сформированы две группы самок, способных к регулярному размножению: 1 группа (контрольная) – самки 2008 года рождения, гон у которых проводился без гормональной стимуляции (n = 63); 2 группа (опытная) – самки 2013 года рождения, гон у которых проводился с использованием гормональной стимуляции (n = 66).

Результаты: Самки, щенившиеся в 1-летнем возрасте, в последующие годы все приходят в течку и являются вполне зрелыми животными, сохраняя свою воспроизводительную способность в дальнейшем. Полученные данные не соответствуют выводам Б.Д. Клятис [1] о том, что самки, щенившиеся в 1-летнем возрасте, не способны к полноценному воспроизводству в 2–3-летнем возрасте.

Самки, прохолостевшие в 1-летнем возрасте, биологически отличаются от самок, щенившихся в 1-летнем возрасте, так как даже в 2-летнем возрасте щенятся только 27.8 %. Гормональная стимуляция, применяемая в 2-летнем возрасте, приводит к тому, что щенится 65.5 % самок.

В 3-летнем возрасте в клеточных условиях самки соболей, прохолостевшие в 1-летнем возрасте, имеют более низкую воспроизводительную способность, нежели самки, щенившиеся в 1-летнем возрасте. Даже гормональная стимуляция имеет меньший положительный эффект (75.0 % против 95.2 % соответственно).

Пропустовавшие в 1-летнем возрасте самки занимают промежуточное положение. В дальнейшем их воспроизводительная способность ниже, чем у самок, щенившихся в 1-летнем возрасте, но выше чем у прохолостевших. Эти самки трехкратно обработаны гормоном в 1-, 2-, 3-летнем возрасте, и их репродуктивность значительно ниже, чем опытных самок, щенившихся и прохолостевших в 1-летнем возрасте, что может быть связано с паратипическими факторами.

Заключение: Гормональная стимуляция самок соболей более эффективна в 1-летнем возрасте, чем в 2–3-летнем. Низкая воспроизводительная способность самок, не давших приплода в 2–3-летнем возрасте, обусловлена не только недостатком гормона.

Список литературы

1. Клятис Б.Д. (1981) Возрастная изменчивость репродуктивного процесса соболей. Биология и патология пушных зверей; 59-61.

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ, ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РАЗВИТИЯ В НЕОНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ У КРЫС ЛИНИИ OXYS

Т.Н. Игонина*, Д.С. Рагаева, О.М. Петрова, Ю.Э. Гербек, М.А. Тихонова, И.Н. Рожкова, С.Я. Амтиславский

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: ukolova@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: крысы линии OXYS, неонатальные рефлексy, плотность и диаметр нейронов, глобальное метилирование ДНК, гиппокамп, префронтальная кора

Мотивация и цели: Линия крыс OXYS представляет модель преждевременного старения. Взрослые крысы OXYS характеризуются комплексом возрастных нарушений, когнитивным дефицитом, а также нейродегенеративными изменениями в мозге. Несмотря на большое количество исследований данной модели, лишь немногие относятся к раннему постнатальному периоду. Настоящее исследование было направлено на изучение формирования сенсорно-двигательных рефлексов, плотности и диаметра нейронов в гиппокампе и префронтальной коре головного мозга, а также глобального метилирования ДНК в гиппокампе в неонатальном периоде у крыс OXYS.

Методы и алгоритмы: У крысят линии OXYS были измерены масса тела (7-й и 14-й дни), неонатальные рефлексy (6–11-й дни), плотность и диаметр нейронов в гиппокампе и префронтальной коре (1-й и 6-й дни), глобальное метилирование ДНК в гиппокампе (1-й и 6-й дни). В качестве контроля использовалась линия WAG. Обе линии имели SPF статус и содержались в SPF-виварии ИЦиГ СО РАН.

Результаты: Масса тела у крыс линии OXYS была ниже, чем у крыс WAG. В неонатальном периоде крысята OXYS демонстрировали замедленное развитие таких рефлексов, как переворачивание на плоскости, избегание обрыва и хватательный рефлекс. По рефлексу отрицательного геотаксиса межлинейных различий не было. Плотность нейронов во всех исследованных областях гиппокампа у новорожденных крысят обеих линий не различалась. На 6-й день жизни у крысят линии OXYS наблюдалась сниженная плотность нейронов в префронтальной коре и CA2 области гиппокампа, в то же время в зубчатой извилине и CA3 области гиппокампа плотность нейронов была увеличена. Кроме того, у 6-дневных крысят OXYS диаметр нейронов в префронтальной коре был меньше, чем у контрольной линии WAG. Уровень глобального метилирования ДНК в гиппокампе у новорожденных крысят OXYS был значительно ниже, чем у новорожденных крысят WAG. У 6-дневных животных различий в уровне метилирования не обнаружено.

Заключение: Выявлены особенности раннего постнатального развития у крыс линии OXYS. У неонатальных крысят линии OXYS наблюдалась общая отсталость развития, характеризующаяся более низким приростом массы тела и замедленным созреванием некоторых базовых сенсорно-двигательных рефлексов. Данные отклонения в развитии сопровождались сниженной плотностью и меньшим диаметром пирамидальных нейронов в префронтальной коре, разнонаправленными изменениями плотности нейронов в областях гиппокампа и сниженным уровнем глобального метилирования в гиппокампе.

Благодарности: Настоящее исследование поддержано Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 15-04-05509-а).

ВЛИЯНИЕ ГЕНОТИПА НА АНТИОКСИДАНТНУЮ СИСТЕМУ АМЕРИКАНСКИХ НОРОК И ЛИСИЦ

Т.Н. Ильина*, И.В. Баишникова, В.А. Илюха

Институт биологии Карельского научного центра РАН, Петрозаводск, Россия

*e-mail: ilyina@bio.krc.karelia.ru

Ключевые слова: норки, лисицы, генотип, антиоксидантная система

Мотивация и цели: Примером доместикационных изменений у пушных зверей могут служить норка и лисица, в результате селекционной работы с которыми выведено большое разнообразие цветовых типов, появление которых обусловлено мутациями отдельных генов. В то же время мутации, влияющие на окраску меха, обладают плеiotропным действием и затрагивают целый ряд признаков животных – помимо морфологических свойств могут происходить существенные изменения физиологических и биохимических параметров. Для объяснения всех механизмов наследственной передачи признаков геноцентрическая парадигма рассматривается как недостаточная, в связи с чем повышенный интерес уделяется вопросам влияния на наследование других факторов, в том числе физиологических [1]. Целью работы было исследование влияния генотипа на антиоксидантную систему (АОС) американских норок (*Neovison vison*) и лисиц (*Vulpes vulpes*).

Методы и алгоритмы: Исследования проведены на норках типов стандартная (+/+), серебристо-голубая (*p/p*), сапфировая (*a/ap/p*), деми-бафф (*a/+p/+*), белая-хедлунд (*h/h*), и лисицах – красная рощинская (*A/A B/B*), платиновая (*b/b W^Pw*), снежная (*b/b W^Gw*), жемчужная (*b/b p/p*). В тканях определяли содержание α -токоферола, ретинола и активность ферментов супероксиддисмутазы и каталазы.

Результаты: При исследовании состояния АОС у норок выраженность генотипических различий отчетливее проявилась в весенний период, когда физиологическая нагрузка на организм животных увеличивается. Изменения содержания антиоксидантов у норок свидетельствуют о биохимических перестройках, связанных с воспроизводством, а уровень этих изменений обусловлен существующими различиями интенсивности метаболизма. У лисиц разных генотипов мутации, затрагивающие окраску меха, также определяют особенности функционирования АОС, причем для низкомолекулярных антиоксидантов они связаны, вероятно, с влиянием на механизмы внутриклеточного транспорта. У лисиц наибольшие различия в состоянии всех звеньев АОС наблюдались в печени, почках и скелетной мышце.

Заключение: Результаты показали, что гены, затрагивающие окраску меха, влияют на физиолого-биохимические показатели метаболизма животных. Один и тот же вектор отбора, связанный с разведением животных в специальных условиях, вызывая появление фенотипических изменений, может, вероятно, приводить к схожим морфологическим и физиологическим изменениям у животных разных таксономических групп.

Благодарности: Финансовое обеспечение исследований осуществлялось из средств федерального бюджета на выполнение госзадания, тема № 0221-2014-0031.

Список литературы

1. Маркель Л.А. (2014). Физиологическая генетика. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 1:112-124.

ГЕНЕТИЧЕСКИ ДЕТЕРМИНИРОВАННОЕ АГРЕССИВНОЕ ПОВЕДЕНИЕ И НЕЙРОТРОФИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ МОЗГА

Т.В. Ильчибаева*, А.С. Цыбко, Р.В. Кожемякина, В.С. Наumenко

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: rbicehok@mail.ru

Ключевые слова: агрессия, доместикация, крысы, нейротрофические факторы, нейротрофический фактор мозга, BDNF, глиальный нейротрофический фактор, GDNF, дофаминовый нейротрофический фактор, CDNF

Мотивация и цели: Агрессия является сложным социальным поведением. В современном человеческом обществе агрессия становится главной мировой социальной проблемой, так как лежит в основе криминального и асоциального поведения. Немаловажен также тот факт, что многие нейродегенеративные и психиатрические заболевания ассоциированы с повышенной агрессивностью. Поэтому изучение механизмов возникновения и развития агрессивного поведения представляет собой крайне актуальную научную задачу. Целью данной работы стало изучение экспрессии нейротрофического фактора мозга (BDNF), глиального нейротрофического фактора (GDNF) и дофаминового нейротрофического фактора мозга (CDNF) у крыс с генетически детерминированным защитно-оборонительным агрессивным поведением.

Материалы и методы: Эксперименты проводились на взрослых самцах высокоагрессивных и ручных крыс 85-го поколения селекции. Уровень мРНК исследуемых генов был определен с помощью количественного ОТ-ПЦР в реальном времени. Уровень белков измерялся с помощью Вестерн-блот анализа.

Результаты: Генетически детерминированное агрессивное поведение связано с усилением экспрессии BDNF, что выражается в повышении уровня мРНК гена *Bdnf*, а также уровня белка proBDNF и зрелой формы BDNF. Наблюдаются значительные различия как в уровнях мРНК, так и в уровне мономерной и димерной форм зрелого белка GDNF, а также его предшественника proGDNF между ручными и агрессивными крысами, что указывает на вовлечение GDNF в механизмы генетически детерминированной агрессии. У агрессивных животных также наблюдается увеличение экспрессии CDNF в ряде структур головного мозга. Значительно увеличивается уровень мРНК гена *Cdnf* в большинстве исследованных структур мозга высокоагрессивных крыс, а также уровень белка предшественника preCDNF в гиппокампе, гипоталамусе и зрелой формы CDNF во фронтальной коре.

Заключение: Полученные результаты позволяют сформулировать нейротрофическую гипотезу регуляции агрессивного поведения, которая постулирует необходимость поддержания нужного уровня нейропластических процессов в структурах мозга, участвующих в контроле агрессивного поведения. В соответствии с данной гипотезой, важной составной частью действия НТФ является трофическая поддержка нейротрансмиттерных систем, вовлеченных в агрессию.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 17-15-01021).

ТИРОЗИНГИДРОКСИЛАЗА МОЗГА ПРИ СЕЛЕКЦИИ ЖИВОТНЫХ ПО ПОВЕДЕНИЮ И ЕЕ РЕГУЛЯЦИЯ ГЛЮКОКОРТИКОИДАМИ

Т.С. Калинина^{1,2*}, Е.В. Сухарева^{1,2}, В.В. Булыгина¹, Д.А. Ланшаков¹,
Г.Т. Шишкина¹, Н.Н. Дыгало^{1,2}

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*e-mail: kalin@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: тирозингидроксилаза, глюкокортикоиды, онтогенез, селекция по поведению, гены раннего ответа, головной мозг

Мотивация и цель: Условия раннего онтогенеза предопределяют функционирование нейромедиаторных систем мозга на протяжении всей жизни. Вместе с тем долговременная модификация норадренергической системы мозга гормонами стресса, глюкокортикоидами, зависит от генотипа животных. Так, введение гидрокортизона в последнюю треть беременности повышает активность ключевого фермента синтеза норадреналина – тирозингидроксилазы (ТГ) в отделах головного мозга взрослых серых крыс, селектированных на повышенную агрессивность по отношению к человеку, не оказывая влияния на активность фермента в мозге крыс «ручного» типа поведения. Причиной, определяющей чувствительность к программирующему действию гормона, могут являться особенности гормональной регуляции экспрессии гена ТГ в раннем онтогенезе у крыс разных линий.

Методы и алгоритмы: Уровни мРНК исследуемых генов определяли методом ПЦР в реальном времени; белков – иммуногистохимически; взаимодействие белков с AP-1 комплексом ТГ – иммунопреципитацией хроматина с последующей ПЦР; активность ТГ и содержание медиаторов – ВЭЖХ.

Результаты: У агрессивной линии серых крыс и крыс линии Вистар, в отличие от ручных, глюкокортикоиды повышают активность ТГ в мозге плодов через 6–72 часа после введения. Способность глюкокортикоидов индуцировать экспрессию гена ТГ ассоциирована с 5–20-кратным превышением соотношения транскриптов *jun* (*junB*, *junD*, *c-jun*) по отношению к *fos* (*c-fos*, *fosB*) в мозге плодов и 3-дневных крысят линии Вистар, а также большей степенью взаимодействия белка JunB с AP-1 элементом промотора гена ТГ, являющихся компонентами неканонического механизма действия гормона. Согласно современным представлениям, именно такое соотношение белков AP-1 комплекса обеспечивает гормональную индукцию зависимых генов. В период нечувствительности ТГ к действию гормона соотношение белков Jun/Fos меняется на обратное. Индукция ТГ сопровождается увеличением активности и уровня белка фермента, а также повышением количества норадреналина. Изменение экспрессии гена ТГ в перинатальном онтогенезе вызывает долговременные отклонения в развитии медиаторной системы – приводит к активации норадренергической системы мозга взрослых животных, меняя профиль экспрессии нейрогенов при стрессе.

Заключение: Чувствительность к гормональной модификации норадренергической системы мозга и регулируемых ею функций может определяться зависимыми от генотипа особенностями активации неканонического механизма действия глюкокортикоидов.

Благодарности: Работа поддержана грантом РФФИ 16-04-01222 и БП № 0324-2016-0002.

ОСНОВНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ СПЕРМАТОГЕНЕЗА У КРЫС, ПРЕДРАСПОЛОЖЕННЫХ К ПРОЯВЛЕНИЮ КАТАТОНИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ

М.А. Клещев*, Т.А. Алехина, Л.В. Осадчук

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия.

*e-mail: max82c11@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: кататония, количество сперматозоидов, подвижность сперматозоидов, морфология сперматозоидов, фертильность

Мотивация и цели: Линия крыс ГК («генетическая кататония») получена из линии Вистар путем длительной (78 поколений) селекции на кататонический тип реагирования и является моделью психопатологических состояний у человека. Известно, что после длительной селекции по поведению наследуется отбираемый признак и коррелятивно изменяются неспецифические функции – стрессорная и половая [1], однако сперматогенные показатели у крыс линии ГК ранее не исследовались. Целью настоящей работы было провести сравнительное исследование сперматогенной функции семенников у крыс линии ГК и линии Вистар в период полового созревания и у взрослых животных.

Методы и алгоритмы: У самцов крыс в возрасте 50 дней (период полового созревания) и 90 дней (взрослые животные) определяли вес тела, семенников и каудальных эпидидимисов, количество сперматозоидов в обоих каудальных эпидидимисах и долю морфологически аномальных головок сперматозоидов. У взрослых животных также оценивали (с использованием анализатора основных показателей фертильности спермы SFA-500-2) долю эпидидимальных сперматозоидов, обладающих прогрессивной подвижностью в культуральной среде DMEM при 37 °C. При рождении крысят регистрировали величину помета для каждой линии.

Результаты: У взрослых крыс линии ГК количество сперматозоидов и их подвижность, вес тела, семенников и каудальных эпидидимисов, количество рожденных потомков были снижены по сравнению с крысами линии Вистар. В период полового созревания крысы линии ГК характеризовались большим количеством сперматозоидов по сравнению с Вистар. Межлинейных отличий по доле морфологических аномалий головки сперматозоидов у самцов крыс не отмечено, как у взрослых животных, так и в период полового созревания.

Заключение и доступность: Наследственная предрасположенность к проявлению кататонических реакций может быть ассоциирована с ухудшением сперматогенных параметров половозрелых самцов крыс, что уменьшает их шансы на нормальное воспроизводство.

Список литературы

1. Беляев Д.К. (1962) О некоторых проблемах коррелятивной изменчивости и их значении для теории эволюции и селекции животных. *Изв. Сиб. отд. АН СССР*. 10:111-124.

ТИПЫ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ ГОЛШТИНИЗИРОВАННЫХ ПЕРВОТЁЛОК И ИХ ВЗАИМОСВЯЗЬ С ХОЗЯЙСТВЕННО ПОЛЕЗНЫМИ ПРИЗНАКАМИ

И.И. Клименок^{1,2*}, В.Л. Малофеев¹

¹ Сибирский научно-исследовательский и проектно-технологический институт животноводства СФНЦА РАН, пос. Краснообск, Новосибирская область, Россия

² Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия

*e-mail: sibnptij@ngs.ru

Ключевые слова: стрессоустойчивость, селекция, молочная продуктивность, взаимосвязь, наследуемость

Мотивация и цели: В современной интенсивной технологии производства молока серьезную негативную роль играют стрессовые факторы, количество которых увеличивается пропорционально росту поголовья на комплексе. Поэтому в настоящее время весьма актуальным является изучение стрессоустойчивости организма и ее использование при голштинизации молочного скота. В связи с этим основная цель нашей работы заключалась в изучении типов стрессоустойчивости и их взаимосвязи с молочной продуктивностью.

Методы и алгоритмы: Экспериментальная часть работы выполнена в ОПХ «Элитное» на голштинизированных первотёлках с продуктивностью 4.5–6.0 тыс. кг молока за лактацию. Теоретической и методической основой работы явился анализ результатов исследований отечественных и зарубежных авторов по изучаемому вопросу. Оценка стрессоустойчивости проводили по методике Э.П. Кокориной [1]. Способ оценки основан на определении интенсивности торможения рефлекса молокоотдачи в ответ на стрессовое воздействие (проведение преддоильной подготовки и доение другой дояркой).

Результаты: К высокому типу стрессоустойчивости были отнесены 17.6 % первотёлок, к среднему – 58.8 %, а 23.6 % первотёлок стада обладали низкой стрессоустойчивостью. Установлено, что отбор матерей с высокой стрессоустойчивостью позволяет получать более 90 % дочерей, наиболее пригодных для использования в условиях промышленной технологии. Коэффициент наследуемости типа стрессоустойчивости оказался высоким ($h^2 = 0.4$). У высокострессоустойчивых первотёлок удой молока натуральной жирности составил 5975 кг за лактацию, что на 1324 кг больше ($p < 0.05$), чем у сверстниц с низкой стрессоустойчивостью. Поэтому себестоимость 1 ц молока у стрессоустойчивых первотёлок была на 49.72 руб. меньше, прибыль на 4171 руб. больше и рентабельность на 16.4 % выше по сравнению с низкострессоустойчивыми сверстницами.

Заключение и доступность: Молочному скотоводству Сибири, базирующемуся на разведении голштинизированных животных, рекомендуется проводить оценку первотёлок за первые 90 дней лактации, что позволит получить от них стрессоустойчивых дочерей, пригодных к интенсивной технологии производства молока.

Список литературы

1. Кокорина Э.П. (1983) Стрессоустойчивость – основной признак отбора коров по принадлежности к промышленной технологии: Молочный скот для высокомеханизированных ферм и комплексов. Л.;118-130.

ИССЛЕДОВАНИЕ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ПРОФИЛЯ ГИПОТАЛАМУСА У КРЫС ЛИНИИ НИСАГ

Л.О. Климов*, О.Е. Редина, А.Л. Маркель

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: maple1708@mail.ru

Ключевые слова: артериальная гипертензия, крысы НИСАГ, центральные механизмы регуляции АД

Мотивация и цель: Гипертензия на сегодняшний день является одной из наиболее распространенных болезней, снижающих качество жизни людей. В основе повышения уровня артериального давления (АД) и развития гипертензии лежит сложный комплекс изменений работы генов в различных тканях и органах организма. Согласно существующей концепции нейрогенной гипертензии, важная роль в развитии заболевания отводится гипоталамусу. Целью настоящего исследования является выявление молекулярно-генетических предпосылок развития стресс-зависимой формы артериальной гипертензии.

Методы: Проводили сравнительный анализ транскриптомов гипоталамуса у гипертензивных крыс НИСАГ (с Наследуемой Индуцируемой Стрессом Артериальной Гипертензией) и нормотензивных крыс WAG (Wistar Albino Glaxo) методом секвенирования РНК (RNA-Seq). Анализ проведен на самцах крыс в возрасте 1 мес., т.е. в предгипертензивный период развития заболевания у крыс НИСАГ. Для выявления дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) использовали пакет программ Cufflinks/Cuffdiff. Функциональную аннотацию ДЭГ проводили с помощью базы данных DAVID. ДЭГ, ассоциированные с гипертензией, выявляли с помощью базы данных Rat Genome Database (RGD).

Результаты: Сравнительный анализ транскриптомов выявил 657 генов, дифференциально экспрессировавшихся в гипоталамусе гипертензивных крыс НИСАГ и нормотензивных крыс WAG. Экспрессия более чем половины из них (392 гена, т.е. 60 %) была повышена у крыс НИСАГ. В целом исследование выявило 41 дифференциально экспрессированный ген, аннотированный в RGD как связанный с гипертензией. Более половины этих генов (24 из 41) имели повышенную экспрессию мРНК в гипоталамусе у крыс НИСАГ. Также еще 3 гена (Cd38, Rap1gds1 и Chrm3) были связаны с вазоконстрикцией в соответствии с базой данных DAVID. Эти 44 гена могут быть играть ключевые роли для развития гипертензивного фенотипа у крыс НИСАГ.

Заключение: Результаты исследования выявили большое число генов, определяющих функцию гипоталамуса у молодых крыс НИСАГ на стадии формирования гипертензивного фенотипа. Эти результаты являются основой для дальнейшего изучения механизмов, связанных с развитием стресс-чувствительной гипертензии.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (№ 14-15-00118) и бюджетного проекта (№ 0324-2016-0002).

ЭФФЕКТ ЭТАНОЛА НА ПОВЕДЕНИЕ И ЕГО ПОТРЕБЛЕНИЕ У РУЧНЫХ И АГРЕССИВНЫХ СЕРЫХ КРЫС

Р.В. Кожемякина*, С.Г. Шихевич, Р.Г. Гулевич

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: korimma@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: этанол, тревожность, отбор по поведению, серые крысы

Цель исследования: Гипотеза о том, что повышенный уровень тревожности или стресса может приводить к алкогольной зависимости, не всегда подтверждается на экспериментальных животных. Серые крысы, в течение длительного периода (80 поколений) селекционируемые на агрессивное и толерантное отношение к человеку, позволяют исследовать взаимосвязь между тревожностью, функцией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС) и алкогольной зависимостью, поскольку у агрессивных крыс повышены и функциональные параметры ГГНС, и уровень тревожности по сравнению с ручными. Целью данного исследования было оценить потребление и предпочтение этанола, а также его эффект на поведение у самцов крыс, селекционируемых на агрессивное и толерантное отношение к человеку.

Методы: Самцы серых крыс во время эксперимента содержались по одному в клетке. 12 % раствор этанола (1 г/кг) или физраствор вводили внутривентрально, спустя 10 мин самцов тестировали в приподнятом крестообразном лабиринте в течение 5 мин. Поведение регистрировали на видеокамеру. Спустя 5 дней после тестирования к клеткам подвешивали по две бутылки с водой и спиртом (2 %, 5 % и 10 % растворы в каждые последующие 5 дней). Вес бутылок фиксировали каждые 1–2 дня. Затем для регистрации эффекта отмены спирт убрали, а через 7 дней возвращали 10 % раствор и продолжали фиксировать вес бутылок в течение 2 дней. Потребление алкоголя считали в г/кг, а предпочтение – в процентах от общего количества потребляемой жидкости.

Результаты: После внутривентрального введения этанола у ручных самцов уменьшалось число вертикальных стоек в центре лабиринта по сравнению с контролем, что может свидетельствовать о повышении тревожности. Такую же тенденцию отмечали и у агрессивных крыс. В целом за 5 дней предъявления этанола у крыс потребление и предпочтение 2 % раствора были максимальны, а 10 % раствора – минимальны. У ручных крыс предпочтение 5 % раствора, а также потребление 10 % раствора были достоверно выше, чем у агрессивных. После семидневной отмены этанола у агрессивных крыс потребление не изменялось, а у ручных становилось больше, чем до отмены, что может быть одним из признаков аддиктивного поведения.

Заключение: Отбор серых крыс на ручное поведение по отношению к человеку вызывает повышение потребления и предпочтения этанола по сравнению с крысами, селекционируемыми на агрессивное поведение. Только у ручных крыс заметны признаки аддиктивного поведения после отмены этанола. Одноразовое введение этанола не оказывает анксиолитического действия у ручных и агрессивных крыс, при этом только у ручных крыс появляются признаки повышения тревожности относительно контроля, получавшего физраствор.

ВЛИЯНИЕ ПОВЫШЕННОГО УРОВНЯ ЛЕПТИНА У БЕРЕМЕННЫХ МЫШЕЙ НА ВЕС ПЛОДОВ И ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ В ПЛАЦЕНТАХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛА ПЛОДОВ

А.Е. Кулешова^{1*}, Е.Н. Макарова²

¹ Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

² ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: a_kuleshova25@mail.ru

Ключевые слова: лептин, беременность, экспрессия генов, мышцы, плацента

Цели: Ожирение у матерей во время беременности увеличивает риск развития ожирения у потомства. При ожирении повышается уровень гормона жировой ткани лептина в крови. На мышах показано, что повышенный уровень лептина во время беременности оказывает отсроченное, зависящее от пола влияние на метаболизм потомства. Возможно, это влияние реализуется через воздействие лептина на рост плодов и функцию плацент. Цель данной работы – изучить влияние повышенного уровня лептина на вес плодов и плацент и экспрессию генов сигнальных и транспортных белков в плацентах в зависимости от пола плодов.

Методы: Исследование проводилось на генетической модели мышей с повышенным уровнем лептина во время беременности (самки линии C57Bl с мутацией yellow (A^y/a) в локусе агути). На 13-й день беременности плоды и плаценты взвешивали, отбирали образцы печени плодов и плацент. Из образцов печени выделяли ДНК, проводили ПЦР-анализ для определения пола плодов. Из образцов плацент выделяли общую РНК, с помощью обратной транскрипции и ПЦР в реальном времени оценивали относительную экспрессию генов переносчиков глюкозы (GLUT 1,3), нейтральных аминокислот (SNAT 1,2,4), инсулиноподобного фактора роста 2 (IGF2) и его рецептора (IGF2R).

Результаты: У A^y/a самок вес плодов вне зависимости от их пола был ниже на 12 %, а вес плацент – на 17 % по сравнению с a/a самками (стандартный генотип). В отличие от контрольных самок, у A^y/a самок наблюдались половые различия в экспрессии генов в плацентах: экспрессия генов GLUT1, GLUT3, SNAT1, SNAT4 была ниже у женского, чем у мужского пола. Также наблюдались генотипические различия в экспрессии генов в плацентах плодов одного пола: у A^y/a самок экспрессия гена GLUT1 в плацентах плодов женского пола была ниже, а экспрессия гена IGF2R в плацентах плодов мужского пола – выше, чем у контрольных самок. **Заключение:** Повышенный уровень лептина, характерный для самок A^y/a генотипа, дифференцирует экспрессию генов-переносчиков глюкозы и нейтральных аминокислот в плацентах в зависимости от пола плодов, что может быть одной из причин гендер-специфического программирующего влияния лептина. Хотя повышенный уровень лептина во время беременности и ассоциируется со сниженным весом плодов и плацент вне зависимости от пола плодов, данный эффект достигается разными путями, в зависимости от пола плодов: у самок – путем снижения экспрессии гена GLUT1, вследствие чего может снизиться уровень поставки глюкозы к плоду, у самцов – путем повышения экспрессии гена IGF2R, вследствие чего может снизиться уровень IGF2.

Благодарности: Набота поддержана РФФИ (проекты 14-04-00694 и 17-04-00908).

БЫСТРЫЕ НЕГЕНОМНЫЕ ЭФФЕКТЫ АЛЬДОСТЕРОНА В ПОЧКАХ КРЫС И МЫШЕЙ

Н.С. Логвиненко*, Л.Е. Каткова, Г.С. Батурина, Е.И. Соленов

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: ninlo@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: альдостерон, почка, негеномный эффект, ENaC

Мотивация и цели: Основным регулятором баланса натрия в организме является стероидный гормон коры надпочечников альдостерон. Он регулирует реабсорбцию натрия в главных клетках эпителия кортикального отдела собирательных трубок (CCD) нефрона почки. Помимо долговременных геномных эффектов, опосредованных через взаимодействие с классическими минералокортикоидными рецепторами и регуляцию экспрессии альдостерон-индуцируемых генов, для альдостерона показано наличие негеномных эффектов. В настоящее время стало известно, что именно негеномные эффекты являются фактором риска в формировании ряда патологических состояний мозга, сердечно-сосудистой системы и почек. Поэтому задачей данного исследования было изучение роли быстрых негеномных эффектов альдостерона на уровень внутриклеточного натрия в главных клетках CCD почек крыс и мышей.

Методы: Работу проводили на самцах взрослых крыс Вистар и мышей C57Bl. Внутриклеточную концентрацию натрия изучали методом флуоресцентной микроскопии с помощью краски Na Green на открытом конце единичного сегмента CCD крысы или мыши при резком изменении $[Na^+]$ в омывающем растворе с 137 mM до 14 mM.

Результаты: Альдостерон в физиологической концентрации 10 nM не изменял уровень натрия в главной клетке CCD при 137 mM, но значительно повышал его при 14 mM в омывающем буфере как у крыс, так и у мышей ($p < 0.05$). Негеномный эффект альдостерона на уровень внутриклеточного натрия проявлялся в первые 10–15 секунд после его добавления и был более выражен у крыс. Одновременное с альдостероном добавление амилорида (10–5 M), блокатора натриевого канала, нивелировало эффект альдостерона у крыс, что свидетельствует об участии в этом процессе эпителиального натриевого канала (ENaC). Главные клетки CCD почек мышей линии C57Bl отличались меньшей реактивностью по отношению к альдостерону, что, по-видимому, обусловлено видовой специфичностью свойств клеточной мембраны.

Заключение: В результате данного исследования впервые обнаружены видовые особенности негеномного эффекта альдостерона на уровень внутриклеточного натрия при резком его изменении в омывающей среде.

Благодарности: Работа поддержана грантом РФФИ № 17-04-00912 и бюджетным проектом № 0324-2016-0002.

МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ОТВЕТ НА СЛАДКО-ЖИРНУЮ ПИЩУ У МЫШЕЙ, СКЛОННЫХ И УСТОЙЧИВЫХ К РАЗВИТИЮ ДИЕТАРНОГО ОЖИРЕНИЯ

Е.Н. Макарова^{1*}, А.Д. Гончар²

¹ *ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

² *Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

*e-mail: maken@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: *диет-индуцированное ожирение, мышцы, углеводно-жировой обмен*

Цель: Потребление пищи с повышенным содержанием сахара и жиров индуцирует развитие ожирения у человека и животных, причем степень ожирения широко варьирует вплоть до его полного отсутствия у некоторых особей. Механизмы развития ожирения, индуцированного диетой, мало изучены. Выявление метаболических особенностей, ассоциированных со склонностью или устойчивостью к развитию ожирения, позволяет вести направленный поиск тех сдвигов в регуляции углеводно-жирового обмена, которые запускают развитие ожирения. Целью данной работы было изучение особенностей углеводно-жирового обмена у мышей, склонных и устойчивых к развитию диет-индуцированного ожирения (ДИО).

Методы: Самок мышей линии C57Bl содержали индивидуально на стандартном корме с 4 по 16 недели жизни, затем часть мышей оставляли на стандартном корме (контроль), остальным дополнительно давали сладкое печенье, семя подсолнечника и свиное сало (сладко-жирная пища – СЖП) и содержали на диете 8 недель. По весу тела мышей, потреблявших СЖП, делили на устойчивых (не отличались от контроля) и склонных (весили больше контрольных мышей) к ДИО. Ежеженедельно измеряли вес тела и потребление пищи. В конце эксперимента проводили тесты толерантности к глюкозе и инсулину. Оценивали биохимические показатели крови, экспрессию генов, вовлеченных в регуляцию потребления пищи, в гипоталамусе и генов, определяющих чувствительность к инсулину, в жире и мышцах.

Результаты: Мыши, устойчивые к ДИО, не отличались от остальных по массе тела в момент отсадки от матерей, но уже со второй недели индивидуального содержания и вплоть до предъявления СЖП меньше весили и потребляли меньше пищи по сравнению со склонными к ДИО и контрольными мышами. Уровни глюкозы, триглицеридов и холестерина в крови у склонных к ДИО мышей были выше, чем у устойчивых, однако потребление СЖП повышало уровни холестерина и глюкозы не только у склонных к ДИО, но и у устойчивых мышей тоже. Чувствительность к инсулину у склонных к ДИО мышей была снижена по сравнению с контрольными и устойчивыми мышами и не различалась у контрольных и устойчивых мышей. Однако толерантность к глюкозе была снижена как у склонных, так и у устойчивых к ДИО мышей.

Заключение: Различная склонность к развитию ДИО у мышей ассоциирована с различной регуляцией потребления и расхода энергии не только при потреблении СЖП, но и в стандартных условиях. Одной из причин развития ДИО может быть неспособность особей поддерживать чувствительность к инсулину при потреблении сладко-жирной пищи.

Благодарности: Работа поддержана бюджетным проектом 0324-2016-0004.

СЕРОТОНИНОВЫЕ РЕЦЕПТОРЫ В МЕХАНИЗМАХ РЕГУЛЯЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИ ДЕТЕРМИНИРОВАННОЙ АГРЕССИВНОСТИ

В.С. Науменко

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

e-mail: naumenko2002@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: генетически детерминированное поведение, агрессия, серотонин, серотониновые рецепторы, крысы

Агрессивность – наиболее изучаемая форма поведения, поскольку лежит в основе асоциального и криминального поведения людей. Агрессия животных, направленная на человека, тесно связана с процессом domestikации животных и, по-видимому, является первой формой агрессивного поведения, которую начали целенаправленно изучать в генетическом аспекте. Одним из наиболее крупных исследований в этом направлении является проводимая в Институте цитологии и генетики СО РАН многолетняя селекция диких серых крыс-пасюков (*Rattus norvegicus*) на повышенную агрессивность по отношению к человеку и ее отсутствие. В результате селекции были получены две линии животных, существенно различающихся по выраженности данного типа агрессивного поведения. Многочисленные исследования, проводимые на этих животных в лаборатории нейрогеномики поведения, выявили значительную роль серотониновой (5-НТ) системы мозга в регуляции агрессивного поведения. В частности, нашими работами было показано вовлечение как минимум 5 различных рецепторов, опосредующих действие 5-НТ на нейроны, из 14 существующих. В докладе будет рассказано о наших последних данных, указывающих на роль 5-НТ1В, 5-НТ2А, 5-НТ2С и 5-НТ7 рецепторов в механизмах генетически детерминированного агрессивного появления. В то же время особое внимание будет уделено ключевому регулятору функциональной активности 5-НТ системы мозга – 5-НТ1А рецепторам, которые изучаются в данной модели в течение длительного времени.

Благодарности: Работа поддержана грантом РФФИ № 16-54-12016.

МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК КОМНАТНОЙ МУХИ *MUSCA DOMESTICA* L.

Ю.М. Никоноров*, Т.Т. Ахметкиреева, Г.В. Беньковская

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

* e-mail: nikonorov@anrb.ru

Ключевые слова: метилирование ДНК, комнатная муха, доноры метильных групп

Мотивация и цели: Метилирование ДНК играет существенную роль в регуляции генной активности у животных и растений. Насекомые представляют интерес в качестве модельных объектов для исследования эпигенетических механизмов реализации фенотипической пластичности, поскольку системы метилирования ДНК у них в той или иной степени редуцированы (Glastad et al., 2011). Для комнатной мухи *M. domestica* L., по аналогии с дрозофилой *Drosophila melanogaster* (отряд *Diptera*), наиболее вероятным является участие процессов метилирования ДНК в эпигенетическом репрограммировании экспрессии генов на ранних стадиях эмбриогенеза (Лусо, 2015). Наша цель – выявление в составе различных фракций ДНК комнатной мухи метилированного цитозина и изучение влияния однократного введения в пищу дополнительного количества доноров метильных групп на онтогенез и репродукцию родительского и последующего поколений.

Методы и алгоритмы: В качестве объекта исследований использовались особи комнатной мухи из линии с сокращенной (*Sh gen*) и увеличенной продолжительностью жизни (*L gen*), полученные при отборе из исходной линии *Cooper*. Источники метильных групп (метионин и адеметионин) использовались в физиологических дозах, рассчитанных для животных, в виде однократной добавки в пищу личинкам III возраста. Наличие в составе ДНК комнатной мухи 5-метилцитозина определяли с помощью метода метилчувствительной ПЦР.

Результаты: На всех стадиях онтогенеза присутствие метилированного цитозина в ДНК комнатной мухи носит «следовой» характер, за исключением кодирующих областей ограниченного числа генов. Добавление в пищу источников доноров метильных групп не приводило к заметному увеличению содержания в ДНК 5-метилцитозина. Выраженными биологическими эффектами являются увеличение продолжительности жизни и плодовитости особей, получавших с пищей метионин и адеметионин, и резкое снижение показателей приспособленности у их потомства. Минимальное содержание в ДНК 5-метилцитозина было отмечено у особей из последующего поколения в обеих линиях и взрослых имаго из линии *L gen*, что может быть вызвано вредным влиянием метилирования ДНК, спровоцированного присутствием избытка доноров метильных групп, на продолжительность жизни имаго чувствительных особей и выживаемость их потомства.

Заключение: Высказано предположение о возможности использования части избытка доноров метильных групп, получаемых с пищей, для метилирования ДНК комнатной мухи.

Благодарности: Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-04801-а и выполнена с использованием материалов ЦКП «Коллекция лабораторных насекомых» ИБГ УНЦ РАН.

РЕПРОДУКТИВНАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ СЕРЕБРИСТО-ЧЕРНЫХ ЛИСИЦ: ЭФФЕКТЫ ДЛИТЕЛЬНОЙ СЕЛЕКЦИИ НА ДОМЕСТИКАЦИОННОЕ ПОВЕДЕНИЕ

Л.В. Осадчук*, Л.Н. Трут

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: losadch@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: *доместикация, серебристо-черные лисицы, репродуктивная эндокринология*

Мотивация и цели: Исторический и практический опыт доместикации показывает, что наследственное преобразование поведения играет существенную роль в изменениях репродуктивной функции у доместичированных видов животных. Особенностью взаимосвязи между поведенческой реакцией животного на присутствие человека и его репродуктивным потенциалом является реализация эффектов через эндокринные механизмы. Однако малоизученной проблемой остается выяснение конкретных гормональных звеньев, которые подвержены воздействию поведенческой селекции. Удобным объектом для исследования этой проблемы являются серебристо-черные лисицы, которые сравнительно недавно были вовлечены в орбиту доместикации и не имеют длительной истории разведения в неволе. Они демонстрируют по отношению к человеку преимущественно трусливо-оборонительные и агрессивные реакции. Целью данного многолетнего исследования явилось изучение селекционных изменений эндокринных механизмов размножения у серебристо-черных лисиц.

Методы и алгоритмы: Академиком Д.К. Беляевым и профессором Л.Н. Трут путем длительной селекции по поведению создана популяция серебристо-черных лисиц, проявляющих положительно-эмоциональную, дружелюбную реакцию по отношению к людям. Она послужила материалом для анализа доместикационных преобразований гормональных паттернов эстрального цикла, беременности, фотопериодического контроля репродуктивных процессов, тестикулярной функции, сексуального поведения, а также пренатального развития гонад.

Результаты: Длительная поведенческая селекция лисиц привела к устойчивому повышению фактической и потенциальной плодовитости у самок через гормональный механизм, усиливая эндокринный путь поддержания беременности и ослабляя сигнальное значение фотопериода как основного средового регулятора репродуктивных ритмов. У самцов селекция снизила сексуальную активность, спермопродукцию и гормональный ответ на сексуальную стимуляцию без существенного изменения фертильности. В пренатальный период онтогенеза отмечено ускорение формирования гипофизарно-семенниковых связей. Универсальный гормональный механизм доместикации животных, заключающийся в снижении функциональной активности гипофизарно-надпочечниковой системы, формировался у лисиц уже в пренатальный период.

Заключение: Селекция серебристо-черных лисиц на элиминацию агрессивных и трусливых реакций по отношению к человеку сопровождалась наследственными преобразованиями нейроэндокринной регуляции поведения, ассоциированными с характерными и устойчивыми изменениями гормональных параметров репродуктивной функции, которые, в свою очередь, индуцировали каскад морфофункциональных последствий в системе размножения.

МОЖНО ЛИ ИССЛЕДОВАТЬ ГЕНЕТИКУ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНЫХ СПОСОБНОСТЕЙ У ЛАБОРАТОРНОЙ МЫШИ?

О.В. Перепелкина, В.А. Голибродо, Н.В. Маркина, А.Ю. Тарасова,
И.И. Полетаева*

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

**e-mail: ingapoletaeva@mail.ru*

Ключевые слова: *поведение животных, когнитивные тесты, селекция, тревожность, крысы, мыши*

Кратко описана история генетических исследований в лаборатории, созданной Л.В. Крушинским в МГУ. Л.В. Крушинский выдвинул концепцию, согласно которой поведение животного складывается из трех компонентов. Он утверждал, что поведение животного базируется не только на врожденных, видоспецифических реакциях и выученных ассоциациях, но что их следует дополнить еще одной ментальной категорией – элементарной рассудочной деятельностью. Первоначально идеи Крушинского не встретили поддержки, хотя они нашли понимание у Д.К. Беляева и Б.Л. Астаурова. В лаборатории Крушинского была сделана попытка генетического исследования признака «способность к экстраполяции», под которым понималась способность не имеющего аналогичного опыта животного найти приманку, которая, двигаясь, исчезала из поля зрения. На основе гибридной популяции крыс (скрещивание пасюк × лабораторная крыса) был начат отбор на высокие показатели этого признака. Решение этой задачи крысами исходной гибридной популяции было статистически достоверным, однако крысы последующих поколений селекции стали обнаруживать настолько высокий уровень тревожности (несмотря на интенсивное приручение), что эксперимент продолжить не удалось. Позднее на основе генетически гетерогенной популяции мышей был начат другой селекционный эксперимент. Мышей отбирали на высокие показатели решения теста на экстраполяцию с одновременным отбором против проявлений тревожности во время тестирования. Такой отбор дал некоторые положительные результаты, но в целом ответ на него был очень слабым. Полученные при этом данные свидетельствуют, что существует тесная связь между способностью мыши к решению когнитивного теста и процессами, определяющими тревожность, которая, в свою очередь, представляется неоднородной по своей природе и механизмам. Эксперименты, проводимые на основе подходов классической генетики, должны сопоставляться и дополняться знаниями по роли в реализации поведения отдельных генов.

МУТАЦИЯ *YELLOW* В ЛОКУСЕ АГУТИ У МЫШЕЙ ПОДАВЛЯЕТ ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ БЕЛКОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ ИНТЕНСИВНОСТЬ ОКИСЛЕНИЯ СВОБОДНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ В СКЕЛЕТНЫХ МЫШЦАХ, ЗАДОЛГО ДО МАНИФЕСТАЦИИ ОЖИРЕНИЯ

Ю.В. Пискунова^{1*}, А.В. Бакланов², А.Ю. Казанцева², Н.М. Бажан^{1,2}

¹ Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

² ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: j_mirsanova@mail.ru

Ключевые слова: генетическое ожирение, *A^y* мыши, гены, мышцы, белый и бурый жир

Мотивация и цели: За последние десятилетия заболеваемость ожирением стремится к масштабам пандемии. У людей и экспериментальных грызунов встречаются монолокусные формы ожирения, к их числу относится меланокортиновое (МК) ожирение. Удобной моделью для изучения развития МК ожирения являются мыши, несущие мутацию *Yellow* в локусе *агути* (*A^y* мыши). Они характеризуются сниженной активностью МК рецепторов во всех клетках организма, что с возрастом приводит к развитию ожирения и диабету 2 типа. В настоящее время достаточно хорошо описан спектр нарушений углеводно-жирового обмена на фоне развитого МК ожирения у *A^y* мышей. Мы предположили, что нарушения обмена энергии у мышей с мутацией *A^y* могут начинаться задолго до развития ожирения. Цель данной работы – изучить у *A^y* мышей показатели углеводно-жирового обмена по мере развития ожирения.

Методы: Исследовали мышей линии C57BL/6J с мутацией *A^y* (*A^y/a* мыши) и мышей стандартного генотипа данной линии (*a/a* мыши, контроль) в трех возрастных группах: 10, 15 и 30 недель. Методом Real-time PCR измеряли относительную экспрессию генов в ключевых белков, контролирующих окисление свободных жирных кислот (СЖК) (uncoupling protein 3 – UCP3; carnitine palmitoyltransferase 1 – CPT1) и захват глюкозы (glucose transporter type 4 – Glut4) в мышцах; запасание триглицеридов (ТГ) (lipoprotein lipase – LPL), их мобилизацию (hormone-sensitive lipase – HSL) и захват глюкозы (Glut4) в белом жире, а также расход энергии (uncoupling protein 1 – UCP1) в буром жире.

Результаты: У контрольных *a/a* мышей наблюдались возрастные изменения уровней мРНК Glut4 и HSL в белом жире и мРНК CPT1 и UCP3 в мышцах: в возрасте 15 недель они повышались и снижались в возрасте 30 недель. В возрасте 10 недель *A^y/a* мыши не отличались от контрольных мышей по всем исследованным параметрам, однако мутация *A^y* устраняла возрастную динамику экспрессии генов белков, контролирующих окисление СЖК в мышцах: в возрасте 15 недель у *A^y/a* мышей уровни мРНК CPT1 и UCP3 были ниже, чем у контрольных.

Заключение: Сниженный уровень мРНК CPT1 и UCP3 в мышцах позволяет предполагать, что у *A^y* мышей снижено окисления СЖК еще до манифестации ожирения. Это может способствовать накоплению ТГ и продуктов перекисного окисления липидов с образованием реактивных форм кислорода в клетках мышц и являться дополнительным фактором, вызывающим инсулинорезистентность у *A^y* мышей еще до развития МК ожирения.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке бюджетного проекта № 0324-2016-0004.

ДОМЕСТИКАЦИЯ И МОЗГ: СОРОК ЛЕТ СПУСТЯ

Н.К. Попова

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

e-mail: propova@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: *доместикация, агрессивность, медиаторы мозга, серотонин, коррелятивная изменчивость, стресс, гипофизарно-половая система*

Доместикация диких животных – краеугольный камень цивилизации. Идея Д.К. Беляева об основе доместикации как бессознательном отборе человеком каменного века неагрессивных животных была подтверждена многолетними уникальными работами Института цитологии и генетики по доместикации серебристо-черных лисиц, крыс-пасюков и американских норок. Обзор посвящен роли медиаторов мозга в механизмах доместикации. Полученные в наших исследованиях данные свидетельствуют об участии серотониновой системы мозга в перестройке поведения при селекции животных на низкую агрессивность. Установлено, что доместикация, превращающая агрессивное дикое животное в неагрессивное и дружелюбное, сопровождается у животных разных видов (серебристо-черных лисиц, крыс-пасюков и норок) изменением основных молекулярных элементов, определяющих функциональную активность серотониновой системы. Агрессивные и неагрессивные животные различаются по уровню серотонина в мозге, по активности основных ферментов метаболизма серотонина и по экспрессии серотониновых рецепторов. Активность катализирующей синтез серотонина в мозге триптофангидроксилазы-2 у неагрессивных животных повышена, активность фермента деградации моноаминоксидазы А – понижена. Доместицированные крысы отличаются от агрессивных и по экспрессии серотониновых 5-HT_{1A} рецепторов: уровень мРНК 5-HT_{1A} рецептора, плотность рецепторов в структурах мозга и функциональная активность у них выше, чем у агрессивных. Все это свидетельствует о существенной роли нейромедиатора мозга серотонина в эволюционном процессе доместикации животных.

Особое внимание обращено на роль медиаторов мозга в коррелятивной изменчивости при селекции по поведению. Представлен комплекс доказательств нашей гипотезы, что одним из механизмов возникновения важнейших коррелятивных признаков при доместикации – изменений в основной системе стресса – гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой, и регулятора репродукции – гипоталамо-гипофизарно-половой системы, является вовлечение в селекционный процесс серотониновой системы мозга, которая, наряду с функцией регулятора агрессивного поведения, контролирует эндокринные железы.

НЕОНАТАЛЬНЫЕ РЕФЛЕКСЫ И ПОВЕДЕНИЕ ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС ЛИНИИ НИСАГ

Д.С. Рагаева*, М.А. Тихонова, О.М. Петрова, Т.Н. Игоница, И.Н. Рожкова,
Е.Ю. Брусенцев, Т.Г. Амстиславская, С.Я. Амстиславский
ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия
*e-mail: ragaeva@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: артериальная гипертензия, крысы, линия НИСАГ, неонатальные рефлекс, поведение, когнитивные функции, плотность нейронов, гиппокамп

Мотивация и цели: Гипертензия – одно из самых распространенных заболеваний у человека, и существует отдельный вопрос о последствиях гипертензии во время беременности на развитие потомков. Линия крыс НИСАГ, полученная в ИЦиГ СО РАН, является генетической моделью эссенциальной гипертензии человека. Имеется несколько работ по изучению поведения у крыс НИСАГ, но развитие крысят в неонатальный период до сих пор оставалось практически не изученным. Более того, имеющиеся до настоящего времени исследования поведения крыс этой гипертензивной линии были проведены на животных конвенционального статуса. Использование животных SPF-статуса повышает достоверность результатов и соответствует правилу 3R. Целью данной работы было охарактеризовать линию НИСАГ SPF-статуса с точки зрения развития рефлексов и гиппокампа в неонатальном периоде, а также поведение взрослых крыс.

Методы и алгоритмы: Масса тела на 7-й, 14-й и 25-й дни, неонатальные рефлекс (6–11-й дни) и плотность нейронов в гиппокампе (6-й день) были измерены у крыс линии НИСАГ SPF-статуса, в качестве контроля использовалась линия WAG SPF-статуса. У взрослых крыс (12–14 недель) были измерены систолическое и диастолическое артериальное давление, проведены поведенческие тесты: открытое поле, тест на распознавание нового объекта, крестообразный лабиринт.

Результаты: Масса тела крыс линии НИСАГ не отличалась от контроля в течение периода вскармливания, но взрослые крысы демонстрировали повышенную массу тела, а также гипертензию. В неонатальном периоде крысы НИСАГ демонстрировали ускоренное развитие таких рефлекс, как захват передними конечностями и отрицательный геотаксис. Это было ассоциировано с большим числом клеток в двух областях гиппокампа (CA1, CA3) по сравнению с контролем. Взрослые крысы НИСАГ были более активны и менее тревожны в тестах «открытое поле» и «крестообразный лабиринт», при этом распознавание объектов у крыс НИСАГ и WAG не отличалось.

Заключение: В неонатальном периоде крысы линии НИСАГ SPF-статуса характеризуются ускоренным развитием и большим числом нейронов в гиппокампе. Взрослые крысы НИСАГ более активны и менее тревожны по сравнению с контролем WAG того же статуса.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ УРОВНЯ НОРАДРЕНАЛИНА В ГИПОТАЛАМУСЕ КРЫС НИСАГ И СЦЕПЛЕННЫХ С НИМ ПРИЗНАКОВ

О.Е. Редина^{1*}, С.Э. Смоленская¹, Н.И. Ершов¹, М.А. Гишинский², Е.В. Антонов¹, А.Л. Маркель^{1,3}

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² НИИ физиологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

³ Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*e-mail: oredina@ngs.ru

Ключевые слова: *норадреналин, гипоталамус, QTL, дифференциально экспрессирующиеся гены, крысы гипертензивной линии НИСАГ*

Мотивация и цели: Гипоталамус является регуляторным центром, контролирующим поддержание гомеостаза. Концентрацию норадреналина в гипоталамусе связывают с уровнем стресс-реактивности организма. Цели работы: 1) определение генетических локусов (QTL), ассоциированных с концентрацией норадреналина в гипоталамусе (КНГ) гипертензивных крыс НИСАГ; 2) определение общих QTL, ассоциированных как с КНГ, так и с другими характеристиками гипертензивных крыс НИСАГ – уровнем артериального давления (АД) в покое и при воздействии эмоционального стресса, весовыми характеристиками органов-мишеней (почки, надпочечники, сердце), поведением крыс в тесте открытого поля; 3) определение генов, дифференциально экспрессирующихся (ДЭГ) в гипоталамусе крыс НИСАГ и контрольных крыс WAG и находящихся в QTL перечисленных признаков.

Методы: QTL-анализ был проведен на самцах-гибридах F_2 (НИСАГ $\times$ WAG) в возрасте 6 месяцев ($n = 126$) с использованием 149 полиморфных микросателлитных маркеров. Анализ сцепления выполнен с помощью программ MAPMAKER/EXP 3.0 и MAPMAKER/QTL 1.1. Для расчета пороговых значений достоверности LOD-балла использовали программу QTL Cartographer Version 1.17, JZmapqtl (statgen.ncsu.edu). Поиск ДЭГ проведен у крыс НИСАГ и WAG в возрасте 6 месяцев с помощью микрочипов RatRef-12 Expression BeadChip (Illumina, Inc., США) для анализа уровня транскрипции 22228 генов крысы.

Результаты: Найдены QTL, ассоциированные с КНГ крыс НИСАГ. Определены общие QTL, ассоциированные как с КНГ, так и с уровнем АД в покое и при воздействии эмоционального стресса, весовыми характеристиками почек, надпочечников, сердца и поведением крыс в тесте открытого поля. В QTL перечисленных признаков определены ДЭГ в гипоталамусе гипертензивных крыс НИСАГ и нормотензивных WAG. Проведен поиск полиморфизмов в этих генах.

Заключение: Выявлены гены, которые могут оказывать влияние на концентрацию норадреналина в гипоталамусе крыс НИСАГ и на фенотипическое проявление ряда сцепленных признаков. Эти ДЭГ являются генами-кандидатами для дальнейшего изучения их влияния на механизмы как формирования стресс-зависимой артериальной гипертензии, так и генетического контроля поведения, эмоциональности и неврологических заболеваний человека.

Благодарности: Работа поддержана бюджетным проектом № 0324-2016-0002.

ОТСРОЧЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ РАННЕГО ПОСТНАТАЛЬНОГО СТРЕССА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ГЛЮКОКОРТИКОИДНОЙ И ГЛУТАМАТНОЙ СИСТЕМ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ МЫШЕЙ

В.В. Решетников^{1*}, А.А. Студеникина^{1,2}, Ю.А. Рябушкина^{1,3}, Т.И. Меркулова¹, Н.П. Бондарь¹

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск, Россия

³ Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*e-mail: vasilyreshetnikov@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: *постнатальный стресс, глюкокортикоидная система, глутаматная система, гиппокамп, гипоталамус, фронтальная кора*

Мотивация и цели: Ранний постнатальный период является важнейшим для развития центральной нервной системы и формирования поведенческого фенотипа взрослой особи. Хронический стресс в этот период приводит к усилению базового уровня кортикостерона, вызывая гиперактивацию ГГНС, что сопровождается активацией глутаматной системы. Целью данной работы было выявить влияние раннего постнатального стресса на экспрессию ключевых генов глюкокортикоидной и глутаматной системы в различных отделах мозга.

Методы: Мыши линии C57BL/6 были подвержены двум видам постнатального стресса: длительное отделение (ДО) детенышей от матерей (3 часа в день) и кратковременное отделение (КО – 15 мин в день) в течение первых 2 недель жизни. Методом ПЦР в режиме реального времени мы оценили экспрессию 7 ключевых генов глюкокортикоидной системы и 13 генов глутаматной системы, а также экспрессию гена *Aur* в гиппокампе, гипоталамусе и фронтальной коре взрослых самцов мышей.

Результаты: Мыши, подверженные длительному отделению в детстве, показали изменения в экспрессии генов в различных отделах мозга. У них наблюдался сниженный уровень экспрессии *Crhr1* в гиппокампе и соотношения *GR/MR* в гиппокампе и гипоталамусе. Кроме того, у этой группы наблюдается усиление экспрессии *Crh* и *Aur* в гипоталамусе и *Fkbp5* во фронтальной коре. В то же время у КО группы наблюдалось лишь усиление экспрессии *Aur* в гипоталамусе. Гены глутаматной системы были меньше подвержены изменениям. Так, группа ДО показала только снижение экспрессии *Grin2b* и соотношения *Grin2b/Grin2a* и *Grin2b/Grin1*. **Заключение:** Таким образом, наши результаты демонстрируют, что длительное отделение по сравнению с кратковременным приводит к более выраженным изменениям в экспрессии генов, затрагивая различные компоненты стрессорного ответа, такие как *Crh*–*Crhr1* активирующую систему, *GRs*–*MRs*, участвующие в моделировании и подавлении активности ГГНС и *Fkbp4*–*Fkbp5*, белки, участвующие в обеспечении физиологического ответа *GRs* и *MRs*. Кроме того, длительное отделение приводит к снижению экспрессии *Grin2b*, что может оказывать влияние на синаптическую пластичность.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ И РЕАКЦИЯ ПРЕСТИМУЛЬНОГО ИНГИБИРОВАНИЯ У КРЫС С ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КАТАТОНИЕЙ

М.А. Рязанова*, О.И. Прокудина, Т.А. Алехина

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: ryazanova@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: модель кататонии, престаимпульное ингибирование, норадренергическая система, альфа1A- и альфа2- адренорецепторы

Мотивация и цели: В ИЦиГ СО РАН под руководством д.б.н. В.Г. Колпакова была создана линия крыс ГК (от слов «генетическая» и «кататония»), предрасположенных к реакциям каталептического застывания. Данный тип кататонических реакций характерен для людей с шизофренией, что дало основание предполагать, что крысы линии ГК по крайней мере частично воспроизводят психопатологию человека. В связи с этим актуально исследование престаимпульного торможения (prepulse inhibition – PPI) у крыс ГК, поскольку оно является индикатором, отражающим способность ЦНС фильтровать сенсорную информацию. Известно, что PPI в большей степени нарушен при шизофрении, а также при некоторых других психиатрических заболеваниях (Swerdlow, Psych. Pharm., 2008; Sanchez et al., Rev. Neurol., 2011). Известно также, что адренорецепторы играют важную роль в двигательных реакциях (Шишкина и др., Журн. ВНД, 2003; Stone et al., Brain. Res., 2009) и, вероятно, могут участвовать в проявлении кататонии у крыс ГК. Цель работы – исследовать реакцию престаимпульного ингибирования у крыс инбредной линии ГК и оценить экспрессию мРНК генов альфа1A- и альфа2A- адренорецепторов в мозге крыс ГК.

Методы: Исследование престаимпульного торможения у крыс ГК и WAG в установке TSE Startle Response System (Germany), определение количества мРНК генов адренорецепторов в структурах мозга крыс (лобная кора, гипоталамус, средний и продолговатый мозг) методом ПЦР в реальном времени.

Результаты: Выявлено снижение уровня престаимпульного торможения у крыс линии ГК. Достоверно более низкий уровень престаимпульного торможения показан как при силе престаимула 75 дБ (по Манну–Уитни: $U = 24.0$, $p < 0.001$), так и при 85 дБ (по Манну–Уитни: $U = 25.0$, $p < 0.001$). Более высокие значения амплитуды рефлекса вздрагивания обнаружены у крыс ГК. Выявлено снижение экспрессии гена $\alpha 1A$ -адренорецептора в среднем ($p < 0.02$) и продолговатом мозге ($p < 0.01$), а также повышение экспрессии гена $\alpha 2A$ -адренорецептора в лобной коре ($p < 0.002$). Кроме того, коэффициент мРНК гена $\alpha 1A$ -адренорецептора/мРНК гена $\alpha 2A$ -адренорецептора в продолговатом мозге и лобной коре крыс линии ГК был снижен ($p < 0.05$).
Заключение: Измененная экспрессия генов $\alpha 1A$ - и $\alpha 2A$ -адренорецепторов в мозге крыс линии ГК может способствовать снижению выделения норадреналина в синаптическую щель и развитию тормозных реакций. Сниженная реакция престаимпульного торможения свидетельствует в пользу функционального сходства крыс линии ГК как генетической модели шизофренической психопатологии с прототипом.
Благодарности: Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№ 16-04-01325) и бюджетного проекта (№ 0324-2016-0002).

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТРАНСКРИПТОМОВ СТВОЛА МОЗГА У ГИПЕРТЕНЗИВНЫХ КРЫС ЛИНИИ НИСАГ И НОРМОТЕНЗИВНЫХ КРЫС ЛИНИИ WAG

Л.А. Федосеева^{1*}, В.М. Ефимов^{1,2}, А.Л. Маркель^{1,2}, О.Е. Редина¹

¹ *ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

² *Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

*e-mail: fedoseeva@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: *стресс-зависимая гипертензия, ствол мозга, RNA-Seq, дифференциально экспрессирующиеся гены, крысы линии НИСАГ*

Мотивация и цели: Нейроны ствола мозга контролируют активность симпатической нервной системы и играют важную роль в регуляции уровня артериального давления (АД). Целью настоящей работы было выяснение центральных механизмов, дающих вклад в генетическую предрасположенность развития стресс-зависимой формы гипертензии у крыс НИСАГ.

Методы: С помощью RNA-seq метода был проведен сравнительный анализ транскриптомов ствола мозга (продолговатый мозг и мост) гипертензивных крыс НИСАГ и нормотензивных крыс WAG в возрасте 3 месяцев. Для выявления дифференциально экспрессирующихся генов (ДЭГ) использовали пакет программ Cufflinks/Cuffdiff, для выявления ДЭГ, дающих максимальный вклад в межлинейные различия, использовали метод PLS-DA.

Результаты: Всего в стволе мозга крыс НИСАГ и WAG в возрасте 3 месяцев было найдено 184 ДЭГ. Согласно их аннотации в базах данных, среди ДЭГ было определено 22 гена, ассоциированных с гипертензией, а также с заболеваниями центральной нервной системы и с рядом заболеваний, часто сопровождающих развитие гипертензии (заболевания иммунной системы, инсулинорезистентность, диабет). Функциональная аннотация ДЭГ выявила ряд биологических процессов, которые могут оказывать влияние на развитие артериальной гипертензии у крыс НИСАГ. Наиболее статистически значимой была группа ДЭГ, описываемая термином «hormone metabolic process», включающая в себя несколько генов, контролирующих биосинтез стероидных гормонов. Были найдены группы генов, описываемых терминами «blood circulation», «regulation of blood pressure», «regulation of blood vessel size», «muscle contraction» и «tissue remodeling». Были выявлены группы генов, ассоциированных с ответом на различные стимулы, такие как «response to endogenous (hormone) stimulus», «response to external stimulus», а также «response to stress» (oxidative stress). Анализ в базе данных KEGG позволил выявить несколько метаболических путей, в функционировании которых можно ожидать наиболее значимые межлинейные различия. С помощью PLS-DA метода выявлены гены, которые могут давать максимальный вклад в межлинейные различия.

Заключение: Полученные результаты позволяют продвинуться в понимании центральных механизмов генетической предрасположенности к развитию стресс-зависимой формы гипертензии.

Благодарности: Работа поддержана грантом РНФ и бюджетным проектом № 0324-2016-0002.

ЭФФЕКТ ВЫСОКОСЕЛЕКТИВНЫХ АГОНИСТОВ 5-HT_{2A} РЕЦЕПТОРОВ НА ЭКСПРЕССИЮ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ В МОЗГЕ МЫШЕЙ

А.С. Цыбко^{1*}, Т.В. Ильчибаева¹, Е.А. Филимонова², В.С. Науменко¹

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² НИИ физиологии и фундаментальной медицины, Новосибирск, Россия

*e-mail: antoncybko@mail.ru

Ключевые слова: серотонин, агонисты, нейротрофические факторы, нейротрофический фактор мозга, BDNF, глиальный нейротрофический фактор, GDNF, дофаминовый нейротрофический фактор, CDNF

Мотивация и цели: Серотониновые рецепторы 2A подтипа (5-HT_{2A}) играют важнейшую роль в механизмах действия антидепрессантов и антипсихотических препаратов. С другой стороны, нейротрофические факторы, такие как нейротрофический фактор мозга (BDNF), глиальный нейротрофический фактор (GDNF) и дофаминовый нейротрофический фактор мозга (CDNF), тоже вовлечены в патогенез и лечение многих психиатрических и нейродегенеративных заболеваний. Однако роль 5-HT_{2A} рецепторов в регуляции экспрессии BDNF *in vivo* не была исследована с использованием высокоселективных агонистов, в то время как эффект активации 5-HT_{2A} рецепторов на экспрессию генов GDNF и CDNF *in vivo* никогда не исследовался. Таким образом, целью данной работы стало изучение эффектов длительной активации 5-HT_{2A} рецепторов высокоселективными агонистами на экспрессию нейротрофических факторов BDNF, GDNF и CDNF в головном мозге мышей.

Материалы и методы: Смешанный 5-HT_{2A/2C} агонист DOI и высокоселективные агонисты TCB-2 и 25CN-NBOH (в 13 и 100 раз более селективные, чем DOI соответственно) вводились взрослым самцам мышей линии C57BL6 в течение 14 дней в дозе 1 мг/кг в/б. Уровень мРНК исследуемых генов был определен с помощью количественного ОТ-ПЦР в реальном времени.

Результаты: Нами выявлено, что TCB-2 и 25CN-NBOH (но не DOI) значительно увеличили уровни мРНК гена BDNF в гиппокампе, черной субстанции и стриатуме в зависимости от проявляемой селективности. Сходным образом TCB-2 и 25CN-NBOH увеличили уровень мРНК GDNF в черной субстанции и гиппокампе. 25CN-NBOH существенно увеличил уровень мРНК CDNF в гиппокампе, однако снизил в черной субстанции. Также TCB-2 снизил уровень мРНК во фронтальной коре.

Заключение: Таким образом, нами впервые показано, что длительная активация 5-HT_{2A} рецепторов высокоселективными агонистами способна модулировать экспрессию нейротрофических факторов BDNF, GDNF и CDNF *in vivo*. В целом агонисты TCB-2 и 25CN-NBOH могут быть удобным инструментом в исследовании взаимодействия 5-HT_{2A} рецепторов и нейротрофических факторов.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 17-15-01021).

ХАРАКТЕРИСТИКИ ВРОЖДЕННОГО ПОВЕДЕНИЯ ЛИНИЙ КРЫС, СЕЛЕКТИРОВАННЫХ ПО ВОЗБУДИМОСТИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ К ДЕЙСТВИЮ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ТОКА

Н.В. Ширяева*, М.Б. Павлова, А.И. Вайдо

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

**e-mail: nvvaido@mail.ru*

Ключевые слова: возбудимость, нервная система, крысы, селекция, поведение

Мотивация и цели: При анализе функционирования нервной системы различают три основных понятия: процесс, структуру и состояние. Понятие функционального состояния нервной системы (ФСНС) чаще всего определяется как фон, на котором развиваются поведенческие акты и соответствующие им процессы. Одним из важнейших показателей ФСНС является возбудимость, существенная роль которой в реализации нормального и патологического поведения впервые была подчеркнута И.П. Павловым. Однако до настоящего времени поведенческий репертуар животных, связанный с возбудимостью нервной системы, исследован далеко не полно. Целью представленной работы явился сравнительно-генетический анализ ряда разновидностей безусловно-рефлекторного поведения у линий крыс.

Методы и алгоритмы: Для изучения характеристик врожденного поведения использовали классические тесты: открытого поля (ОП) по К. Холлу, тревожности (темно-светлая камера – ТСК) по С. Файл и агрессивности по Р. Хатчинсон. Объектом исследования служили две линии крыс, селектированные в лаборатории генетики ВНД института по высокому (3.5 V) ВП и низкому НП (0.7 V) порогам возбудимости нервной системы, 70-го поколения отбора. Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Statgraphics PLUS 5.0.

Результаты: Обнаружены межлинейные различия: 1) в ОП – у низковозбудимой линии крыс ВП двигательная активность (число пересеченных квадратов) достоверно ($p < 0.05$) выше таковой у высоковозбудимой линии НП, для которой характерны более высокие показатели вертикальной активности (стойки), груминга и эмоциональности (болюсы); 2) в ТСК – характеристики латентного периода, времени нахождения в светлой камере, число болюсов в обеих частях камеры у крыс линии НП ниже ($p < 0.05$) такового у животных противоположной линии селекции. Хотя высоковозбудимые крысы линии НП быстрее оценивают обстановку и больше времени проводят в темной камере, для них характерно большее число переходов между камерами; 3) в тесте агрессивности – пороги вздрагивания и агрессии (принятие крысой позы «боксер») также достоверно ниже у крыс линии НП по сравнению с низковозбудимой линией ВП. Ранее нами была установлена высокая корреляция болевой чувствительности с функциональным состоянием нервной системы (по возбудимости), и этим можно объяснить полученный результат.

Заключение: Таким образом, установлены межлинейные различия по характеристикам врожденного поведения у крыс с контрастным уровнем возбудимости нервной системы. Существенно, что несмотря на то, что межлинейные различия по возбудимости сохраняются на одном уровне в течение нескольких десятков поколений селекции, так же как и различия по поведению, их направленность меняется, а это ставит вопрос о необходимости тщательного исследования нестабильности линейных геномов в ходе отбора.

ВЛИЯНИЕ МЕЖСАМЦОВЫХ КОНФРОНТАЦИЙ НА УРОВНИ КОРТИКОСТЕРОНА И ТЕСТОСТЕРОНА В КРОВИ У КРЫС, СЕЛЕКЦИОНИРУЕМЫХ ПО ПОВЕДЕНИЮ

С.Г. Шихевич*, М.Ю. Коношенко, Р.В. Кожемякина, Р.Г. Гулевич

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: shikhsvt@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: поведение, отбор, серые крысы, конфронтации, кортикостерон, тестостерон

Цель исследования: Среди многих факторов, влияющих на экспрессию агрессии, рассматриваются, в частности, генетические и гормональные. Согласно одной из гипотез, повышенное соотношение уровней тестостерона/кортизола в крови у человека может свидетельствовать о предрасположенности к агрессии. Тогда как у самцов крыс усиление агрессии сопровождается повышенным соотношением уровней тестостерона/кортикостерона в крови после теста резидент–интродер. Однако эти данные не всегда находят подтверждение. Селекционная модель серых крыс с ручным и агрессивным поведением по отношению к человеку дает возможность исследовать генотипические особенности гормональных изменений, вызванных межсамцовыми конфронтациями. Целью данной работы было исследование влияния отбора по поведению на уровни тестостерона и кортикостерона в крови, а также их соотношение до и после конфронтаций у ручных, агрессивных и неселекционированных самцов серых крыс.

Методы: Самцов из одной и той же поведенческой группы одновременно помещали на 5 минут в незнакомую клетку из прозрачного пластика. Для определения уровня гормонов в плазме кровь брали из кончика хвоста сразу после конфронтаций, а также через 30 минут, один и два часа после их окончания. Уровни кортикостерона и тестостерона в плазме крови определяли иммуноферментным методом с помощью специальных наборов EIA фирмы IDS.

Результаты: Уровень кортикостерона в крови после конфронтаций достоверно повышался у самцов всех трех исследуемых групп; у неселекционированных крыс до и в течение двух часов после конфронтаций он был выше, чем у агрессивных и ручных животных. Уровень тестостерона в крови до конфронтаций достоверно не различался у самцов всех трех групп, а сразу после конфронтаций у ручных крыс оказался ниже, чем у неселекционированных и агрессивных животных, и спустя 30 минут оставался более низким, чем у последних. Соотношение уровней тестостерона/кортикостерона после конфронтаций было выше у агрессивных самцов по сравнению не только с ручными, но и неселекционированными.

Заключение: У неселекционированных крыс конфронтации начинаются на фоне более высокого базального уровня кортикостерона по сравнению с агрессивными и ручными самцами, в течение последующих двух часов после конфронтаций повышенный уровень этого гормона у них сохраняется. Тогда как у крыс, селекционированных на агрессивное поведение, отмечается более высокая концентрация тестостерона после конфронтаций по сравнению с ручными, которая поддерживается на уровне неселекционированных крыс.

Благодарности: Исследования проведены в рамках бюджетного проекта № 0324-2016-0002.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПОЛОВЫХ РАЗЛИЧИЙ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ИНСУЛИНУ У МЫШЕЙ

Т.В. Яковлева

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

e-mail: jakov@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: половые различия, толерантность к глюкозе, чувствительность к инсулину, мРНК, *Insr*, *Irs1/2*, *Pik3cd*, *Slc2a2/4*, мышцы линии C57BL/6J

Мотивация и цели: Известно, что существуют половые различия в развитии метаболических нарушений: самцы мышей более склонны к развитию гиперинсулинемии по сравнению с самками, однако влияние пола на экспрессию генов, кодирующих белки трансдукции сигнала инсулина, изучено мало. Целью данной работы было исследовать молекулярные механизмы, лежащие в основе половых различий чувствительности к инсулину у мышей.

Методы: Поскольку влияние половых гормонов на чувствительность к инсулину зависит от их концентрации, чувствительность к инсулину у молодых и взрослых животных может меняться в ходе становления функции гонад. В данной работе мы сравнивали показатели углеводно-жирового обмена (вес тела, печени и жировой ткани, уровни триглицеридов и холестерина в крови у сытых и голодных животных), показатели чувствительности к инсулину (толерантность к глюкозе (ГТТ), чувствительность к инсулину (ИТТ), уровни глюкозы и инсулина в крови у сытых и голодных животных) и уровень мРНК генов, кодирующих белки трансдукции инсулинового сигнала, в печени, в мышечной и жировой тканях у самок и самцов мышей C57BL/6J в возрасте 10 недель (молодые) и 30 недель (взрослые). Методом real-time ПЦР в мышцах и жировой ткани измеряли уровень мРНК генов рецептора инсулина (*Insr*), субстрата инсулинового рецептора (*Irs1*), фосфатидилинозитол-3-киназы (*Pik3cd*) и транспортера глюкозы (*Slc2a4*), в печени – *Insr*, *Irs2*, *Pik3cd*.

Результаты: Показано, что чувствительность к инсулину молодых самок и самцов мышей линии C57BL/6J не различалась, только у самок толерантность к глюкозе с возрастом повышалась и чувствительность к инсулину у взрослых самок была выше, чем у самцов. Изменение толерантности к глюкозе у самок с возрастом было ассоциировано с повышением уровня мРНК *Irs2* в печени, а также со снижением уровня мРНК *Insr* и *Irs1* в мышцах и *Pik3cd* в жировой ткани. У самцов с возрастом снизился уровень мРНК *Insr* в мышцах, но повысился уровень мРНК *Pik3cd* в мышцах и *Irs1* в жировой ткани. Взрослые самки отличались от самцов повышенным уровнем мРНК *Insr*, *Irs2* и *Pik3cd* в печени, сниженным уровнем мРНК *Pik3cd* и *Slc2a4* в мышцах и *Insr* и *Pik3cd* в жировой ткани.

Заключение: Можно предположить, что в основе половых различий чувствительности к инсулину лежит повышенная экспрессия генов, кодирующих белки трансдукции инсулинового сигнала, в печени. Отсутствие возрастных изменений чувствительности к инсулину у самцов может быть следствием разнонаправленного изменения экспрессии генов белков трансдукции сигнала инсулина в печени и периферических тканях.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант 15-04-03187) и бюджетного проекта № 0324-2016-0002.

EARLY LIFE STRESS PROMOTES THE CHANGES IN WHOLE-GENOME DISTRIBUTION OF H3K4ME3 IN PREFRONTAL CORTEX OF ADULT MICE

N.P. Bondar^{1*}, N.I. Ershov¹, A.A. Lepeshko^{1,2}, V.V. Reshetnikov¹, Yu.A. Ryabushkina², T.I. Merkulova¹

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

²*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

*e-mail: nbondar@bionet.nsc.ru

Key words: early life stress, maternal separation, handling, mice, chromatin modifications, H3K4me3

Motivation and Aim: Stressful events in early postnatal period have critical consequences for the individuals' life and can increase later risk for the development of psychiatric disorders. The molecular mechanisms underlying these long-term effects of early life stress are currently unclear.

Methods: We explored the effects of two types of stress in mice: separation of pups from their mothers either for 3 hours per day (maternal separation – MS) or for 15 min daily (handling – HD) during the first 2 weeks of life. Non-handled animals were used as controls. We studied the effects of stressful conditions on individual and social behavior, and cognitive abilities of adult mice. To assess the involvement of epigenetic modifications in mediating long-lasting effects of early postnatal stress, we analyzed whole-genome H3K4me3 profiles in prefrontal cortex using ChIP-seq.

Results: MS males demonstrated reduced locomotory and exploratory activity, as well as disturbance of spatial memory in Morris water maze. HD males showed decreased anxiety and more active social behavior compared with control. We have revealed significant differences in H3K4me3 levels only between MS and control groups in 11 chromatin loci. The revealed loci are located in the promoters of 16 genes, two of them (*Pip4k2a*, *Ddias*) showed significantly increased expression in MS group compared to control.

Conclusion: Our results indicate that early postnatal stress have long-lasting consequences on behavior, gene expression and epigenetic status in adult mice.

Acknowledgements: The work was supported by Russian Science Foundation project 16-15-10131.

IMMEDIATE AND ENDURING EFFECTS OF BRIEF REPEATED MATERNAL SEPARATION AND HISTONE DEACETYLASE INHIBITION IN MICE

O.V. Burenkova*, E.A. Aleksandrova, I.Yu. Zarayskaya

P.K. Anokhin Research Institute of Normal Physiology, Moscow, Russia

**e-mail: o.burenkova@nphys.ru*

Key words: *early-life stress, maternal separation, corticosterone, olfactory discrimination learning, maternal behavior, contextual fear conditioning, epigenetics, histone deacetylase inhibition, sodium valproate*

Motivation and Aim: Early-life adverse events have the long-lasting neurobehavioral effects in both rodents and humans through epigenetic mechanisms [1, 2]. Maternal separation (MS) model is one of the most commonly used rodent models of early-life adversity. However, the studies with MS shorter than 3 hours are rather scarce, despite the fact that carrying out manipulations with the pups (various tests, pharmacological injections, surgical procedures, etc.) during developmental and other investigations requires MS for the period starting from 30–60 minutes. The aim of our work was to study immediate and enduring outcomes of brief repeated maternal separation in 129Sv mice. For the prevention of possible negative influences of MS we proposed the use of pharmacological agent, modulating epigenetic mechanisms, i. e. histone deacetylase inhibitor sodium valproate.

Methods and Algorithms: Brief repeated MS was performed on postnatal days (PND) 3–6 for 45 min/day (MS-only group). In the MS-valproate group, sodium valproate was administrated subcutaneously (dissolved in saline at the concentration of 50 mg/kg) on PND 3–6 during the MS procedure. Saline injections served as control for sodium valproate administration (MS-saline group). We performed the analysis of pups' blood corticosterone level on PND7. Olfactory discrimination learning was studied on PND8. As adults, animals were tested for contextual fear conditioning (males), and for home cage maternal behavior (females).

Results: We revealed numerous immediate and long-lasting effects of MS: increase in corticosterone level, the impairment of neonatal olfactory discrimination learning, contextual fear memory formation in adult males, and maternal behavior in adult females. Administration of sodium valproate partially prevented the occurrence of these negative effects.

Conclusion: Taken together, our findings suggest that even brief periods of maternal separation such as 45 min/day during the first week of life are sufficient to produce immediate and enduring effects on the physiology and behavior of mice. As a candidate for their prevention, sodium valproate can be considered.

Acknowledgements: Supported by RFBR Grant 16-34-00253.

References

1. Suderman M. et al. (2012) Conserved epigenetic sensitivity to early life experience in the rat and human hippocampus, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 109:17266-17272.
2. Turecki G., Meaney M.J. (2016) Effects of the social environment and stress on glucocorticoid receptor gene methylation: A systematic review. *Biol. Psychiatry*. 79(20):87-96.

THE INSULIN-LIKE RECEPTOR GENE EXPRESSION IN TISSUES SYNTHESIZING GONADOTROPIC HORMONES AT *DROSOPHILA MELANOGASTER* FEMALE SEXUAL MATURATION

M.A. Eremina*, O.V. Andreenkova, N.V. Adonyeva, N.E. Gruntenko, I.Yu. Rauschenbach

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

*e-mail: eremina@bionet.nsc.ru

Key words: *juvenile hormone, 20-hydroxyecdysone, insulin-like receptor, Drosophila*

An important role in the control of hormonal status in insects is played by a highly conserved insulin/insulin-like growth factor signaling (IIS) pathway. In *Drosophila*, this pathway includes the insulin-like receptor (InR), eight insulin-like peptides (DILP1-8), the Forkhead box class O transcription factor (dFOXO) and the ortholog of mammalian insulin receptor substrate, CHICO. The IIS takes part in the regulation of the synthesis of insect gonadotropic hormones, juvenile hormone (JH) and 20-hydroxyecdysone (20E). Here we performed an immunohistochemical analysis of InR expression in *corpus allatum* (a JH-producing gland) and follicular ovarian cells (a site of the synthesis of 20E precursor, ecdysone) during the sexual maturation of *D. melanogaster* females, and studied the effect of exogenous JH on InR expression in these tissues. We demonstrated a stage-specific character of InR expression in *Drosophila corpus allatum* and follicular cells: its intensity in young females is much higher than that in sexually mature individuals. We also found a negative feedback in the IIS regulation of JH level in *Drosophila* adults: an experimental increase of JH titer in young females sharply reduced the intensity of InR expression in *corpus allatum* and follicular cells.

Acknowledgements: The study was supported by the RFFI grant No. 15-04-02934 and B.P. No. 0324-2015-0004.

THE ADVANTAGES OF NON-INVASIVE TECHNIQUES FOR INVESTIGATION OF PHYSIOLOGICAL PARAMETERS IN LABORATORY ANIMALS

A.A. Seryapina*, O.B. Shevelev

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

**e-mail: seryapina@bionet.nsc.ru*

Key words: *ISIAH rats, non-invasive methods, MR-angiography, MR-spectroscopy*

Motivation and Aim: Validity of scientific research methods is in the spotlight now, along with growing requirement of adherence to bioethical regulations, developed in accordance with humanistic principles of managing the experiments on laboratory animals. The use of laboratory animals is controlled by bioethical committees established in biological and medical scientific organizations, guiding by a range of regulations, such as the Three Rs principle (Replacement, Reduction, Refinement) [1]. There is also a tendency to minimize the influence of incidental factors (including stress) on measurement results. Considering that, the experimental registration of physiological parameters must be preferably non-invasive, yet sufficiently informative. One of methods, which is believed to meet these requirements, is high-field magnetic resonance imaging (MRI). In this study, methods of magnetic resonance angiography (MRA) and magnetic resonance spectroscopy (MRS) were applied to study the physiological parameters in animal model of arterial hypertension (ISIAH rats) [2].

Methods and Algorithms: The work was carried out in SPF-vivarium (RFMEFI61914 X0005, RFMEFI62114X00010) of the Institute of Cytology and Genetics (Novosibirsk, Russia). Studied were hypertensive ISIAH rats and normotensive WAG rats at the age of 1 month and then at 3 months. Blood pressure was monitored in non-anesthetized animals by non-invasive tail-cuff technique. MRI investigation was performed on anesthetized animals to evaluate the hemodynamic parameters and brain metabolites changes.

Results: Non-invasive intravital investigation in ISIAH rats demonstrated that age-dependent increase in the blood pressure of ISIAH rats was associated with increased blood flow through the renal arteries and decreased blood flow in the lower part of abdominal aorta. Analysis of brain metabolites ratios showed that establishment of sustainable stress-sensitive hypertension is accompanied by decrease in prefrontal cortex activity and mobilization of hypothalamic processes [3].

Conclusion: High-field magnetic resonance imaging (MRI) provides the opportunity for non-invasive estimation of wide variety of physiological parameters *in vivo*.

Acknowledgements: The study was supported by Russian Science Foundation (Project No. 14-15-00118).

References

1. Russell W.M.S., Birch R.L. (1959) The Principles of Humane Experimental Technique. London: Methuen & Co. Ltd.; 238.
2. Markel A.L. (1992) Development of a new strain of rats with inherited stress-induced arterial hypertension. *Genetic Hypertension*. 218:405-407.
3. Seryapina A.A. et al. (2017) Stress-sensitive arterial hypertension, hemodynamic changes and brain metabolites in hypertensive ISIAH rats: MRI investigation. *Experimental Physiology*. 102(5):523-532.

ARGUMENTS ON THE ORIGIN OF THE VERTEBRATE LIVER AND THE AMPHIOXUS HEPATIC DIVERTICULUM: A HYPOTHESIS ON EVOLUTIONARY NOVELTIES

V.M. Subbotin

Department of Pathology, School of Medicine, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA 15260, USA

*Department Oncology, School of Medicine and Public Health, University of Wisconsin, Madison
WI 53705, USA*

e-mail: vsbttin@pitt.edu; subbotin@wisc.edu

Key words: *evolution, homology, chordate, vertebrate, liver, Amphioxus, phylogenetic precursor, Romer, Darwin*

Morphologic changes in evolution imply that all organs must descend with modifications from homologous organs of a common ancestor (Homology Principle). However, unlike other visceral organs, e. g., heart, the anatomical features of the liver/portal system have been highly conserved in vertebrate lineage. Already in the basal vertebrates (Cyclostomata), the visceral post-capillary blood is collected into the portal vein and directed to the liver, where it breaks into the capillaries again, forming venous *rete mirabilia*, the hallmark feature of the vertebrate liver. The anatomical stability of this complex arrangement in all vertebrates pleads for the search of the homologous precursor. Amphioxus possesses the midgut diverticulum, whose vascularization, developmental and topological characteristics are similar to those of the vertebrate liver/portal system. Experts have long suggested Amphioxus diverticulum as the homologous precursor of the vertebrate liver. The recent discovery of vertebrate liver-specific proteins in the Amphioxus diverticulum supports this hypothesis. However, the Homology Principle obligates us to ask the important question: What is the phylogenetic precursor of the complex Amphioxus diverticulum? There is no relevant evidence from putatively preceding forms (existing or fossil). However, recently discovered facts on Amphioxus' diverticulum development (A.O. Kovalevsky and L.Z. Holland) and function, combined with yolk sac vascularization in Cyclostomata and fishes by venous visceral blood, reinforce the hypothesis that Amphioxus' diverticulum evolved from a yolk sac of an advanced chordate ancestor, as suggested by A.S. Romer in his analysis on the transition from "visceral" to "somatic" animals in the evolution of chordates. Earlier, Charles Darwin, based on A.O. Kovalevsky's observations, supported similar phylogeny of chordates.

Секция

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ГЕНЕТИКА И КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ

Session

MOLECULAR GENETICS AND CELL BIOLOGY

МОЛЕКУЛЯРНО-ЦИТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЯДА ИНДУЦИБЕЛЬНЫХ СИСТЕМ НА ОСНОВЕ GAL4/UAS ДЛЯ АНАЛИЗА ФУНКЦИЙ МОЗГА *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Е.Н. Андреева^{1*}, А.А. Огиенко^{1,2}, А.Л. Алексеева¹, А.В. Пиндюрин^{1,2}

¹ Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

² ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: andreeva@mcb.nsc.ru

Ключевые слова: *Drosophila*, GAL4/UAS, драйвер, нервные ганглии

Мотивация и цели: Исследование мозга на дрозофиле имеет важное значение применительно к человеку, поскольку молекулярные механизмы, лежащие в основе функций нервных клеток, консервативны. В частности, около 77 % генов человека, ассоциированных с заболеваниями, имеют ортологов у дрозофилы [1]. Замещение гена дрозофилы на ортолог человека является широко используемым генетическим подходом. На дрозофиле экспрессию целевого гена в центральной нервной системе (ЦНС) индуцируют при помощи системы GAL4/UAS на определенной стадии развития организма. Однако для ряда драйверных GAL4-линий как не известна молекулярная трансгенная природа, так и не описаны точные паттерны экспрессии белка GAL4 в клетках глии и/или нейронах. Данная работа направлена на восполнение этих пробелов.

Результаты: В ЦНС личинок дрозофилы была детально охарактеризована экспрессия белка GAL4, индуцированная посредством драйверов из следующих линий, полученных из Bloomington Drosophila Stock Center (BDSC): № 458 (*elav-GAL4*), № 8760 (*elav-GAL4*), № 8765 (*elav-GAL4*), № 7415 (*repo-GAL4*) и № 1774 (“69B”). Необходимо отметить, что ген *elav* кодирует белок, специфичный для нейронов, а ген *repo* – для глиальных клеток. При помощи процедуры обратной ПЦР нами была определена ранее неизвестная геномная локализация драйверных конструкций в линиях BDSC № 8760, 8765 и 1774. Путем активации экспрессии конструкции UAS-GFP каждым исследуемым драйвером в сочетании с иммуноокрашиванием препаратов нервных ганглиев личинок антителами к белкам Elav и Repo и последующей конфокальной микроскопией были определены паттерны активности всех драйверов. Оказалось, что только драйверы из линий типа “enhancer trap” – BDSC № 458 и 7415 – характеризуются ожидаемыми паттернами активности белка GAL4, соответственно совпадающими с нейрональными Elav⁺ и глиальными Repo⁺ клетками. В линиях BDSC № 8760 и 8765 белок GAL4 нарабатывается только в частично перекрывающихся подгруппах нейрональных Elav⁺ клеток. Помимо этого, мы установили, что в линии BDSC № 1774 белок GAL4 активен в части нейрональных Elav⁺ клеток, части глиальных Repo⁺ клеток, а также в клетках какого-то другого, пока не идентифицированного типа.

Список литературы

1. Reiter L.T. et al. (2001) A systematic analysis of human disease-associated gene sequences in *Drosophila melanogaster*. *Genome Res.* 11(6):1114-1125.

ПОИСК МАТЕРИНСКИ НАСЛЕДУЕМЫХ БАКТЕРИЙ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ СЕМЕЙСТВА CHIRONOMIDAE (INSECTA: DIPTERA) ГОЛАРКТИКИ

А.Д. Брошков^{1*}, М.А. Юдина^{1,2}, М.А. Данилова³, Л.И. Гундерина²,
Ю.Ю. Илинский^{1,2}

¹ Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

² ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

³ Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград, Россия

*e-mail: a.broshkov@g.nsu.ru

Ключевые слова: *Chironomidae*, симбиоз, бактерии

Мотивация и цели: Матерински-наследуемые бактериальные симбионты обнаружены у широкого круга насекомых. Эти симбионты имеют значительное влияние на биологию своих хозяев и, в частности, определяют их устойчивость к патогенам, формируют изоляционный барьер, обеспечивают важными метаболитами. Комары семейства *Chironomidae* – важный модельный объект эволюционной биологии, однако данные по матерински-наследуемым симбионтам у комаров-звонцов в литературе практически не встречаются. Цель данной работы – установление статуса инфицированности видов семейства *Chironomidae* в отношении бактерий *Arsenophonus*, *Spiroplasma* и *Wolbachia*.

Методы и алгоритмы: Проанализированы личинки 41 вида семейства *Chironomidae* (всего 721 экземпляр) из 85 популяций Голарктики. Из каждого образца выделяли тотальную ДНК для поиска симбиотических бактерий *Arsenophonus*, *Spiroplasma* и *Wolbachia* с использованием родоспецифичных праймеров к гену 16S rRNA. Для точной таксономической идентификации каждой личинки проводили кариологический анализ.

Результаты: В докладе представлены и обсуждаются результаты скрининга в свете экологических особенностей и эволюционной истории комаров-звонцов, а также приводится сравнительный анализ наших результатов с подобными данными для других семейств двукрылых насекомых.

Благодарности: Поддержано РФФИ № 16-04-00980 и БП № 0324-2016-0002.

ИЗУЧЕНИЕ ФУНКЦИЙ ОПУХОЛЕВОГО СУПРЕССОРА *HYD* В КЛЕТКАХ ЗАРОДЫШЕВОЙ ЛИНИИ *D. MELANOGASTER*

Ю.А. Галимова^{1*}, Н.В. Дорогова², С.А. Федорова²

¹ Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

² ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: pertseva@ngs.ru

Ключевые слова: опухолевый супрессор, оогенез, РНК-интерференция

Мотивация и цели: Одним из важных аспектов исследования механизмов канцерогенеза является изучение генов супрессоров опухолевого роста, контролирующих постоянство клеточного состава организма и препятствующих образованию опухолей. Среди известных генов-супрессоров опухолей интересен ген дрозофилы *hyperplastic discs (hyd)*, мутации которого вызывают разрастание имагинальных крыловых дисков [1]. Высокую степень гомологии с геном *hyd* дрозофилы имеет ортолог *hyd* у человека – ген *EDD*. Его оверэкспрессия, а также аллельный дисбаланс по локусу *EDD* были найдены для многих видов рака [2]. Также известно, что нарушение функции *EDD* приводит к опухолям яичников, а мутации *hyd* у дрозофилы – к стерильности самцов и самок [1]. Целью работы являлось определение функций гена *hyd* именно в зародышевой линии клеток, так как процессы оогенеза и сперматогенеза представляют собой удобную систему для исследования клеточных делений (митоз и мейоз) и морфогенеза внутриклеточных структур.

Методы и алгоритмы: Чтобы выяснить причины стерильности и более глубоко охарактеризовать функцию *hyd*, мы подробно исследовали оогенез у особей, несущих мутации *hyd*¹⁵ и *hyd*^{C017}, а также фенотип, полученный в результате РНК-интерференции гена *hyd* в генеративных клетках яичников на разных стадиях оогенеза.

Результаты: Анализ нарушений в клетках яичников дрозофилы в случае мутаций, а также при эктопическом подавлении экспрессии гена *hyd* с помощью РНК-интерференции показал, что отсутствие нормальной функции гена *hyd* приводит к гибели зародышевых клеток уже на самых ранних стадиях оогенеза. При этом в некоторых случаях, напротив, это приводило к оверпролиферации и формированию яйцевых камер с избыточным количеством зародышевых клеток.

Заключение: Таким образом, дисфункция или недостаток *hyd* приводят, помимо ожидаемой оверпролиферации (в малом количестве случаев), к массовой гибели зародышевых клеток. Представляет интерес выявление механизмов наблюдаемого феномена, так как возможность управляемого переключения с гиперпролиферации на клеточную гибель является привлекательной мишенью противораковой терапии.

Список литературы

1. Mansfield E. et al. (1994) Genetic and molecular analysis of *hyperplastic discs*, a gene whose product is required for regulation of cell proliferation in *Drosophila melanogaster* imaginal discs and germ cells. *Developmental Biology*. 165:507-526.
2. Clancy J.L. et al. (2003) *EDD*, the human orthologue of the *hyperplastic discs* tumour suppressor gene, is amplified and overexpressed in cancer. *Oncogene*. 22:5070-5081.

ДИФФЕРЕНЦИРОВКА ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА В НЕЙРОНЫ СТРИАТУМА ДЛЯ СОЗДАНИЯ МОДЕЛИ *IN VITRO* БОЛЕЗНИ ХАНТИНГТОНА

Е.В. Григорьева^{1, 2, 3, 4*}, А. Сурумбаева^{1, 2, 4}, Т.Б. Маланханова^{1, 2, 3, 4},
С.В. Павлова^{1, 2, 3}, Л.А. Сульдина¹, С.М. Закиян^{1, 2, 3, 4}

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

³ Новосибирский НИИ патологии кровообращения им. Е.Н. Мешалкина Министерства здравоохранения РФ, Новосибирск, Россия

⁴ Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*e-mail: evlana@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: *средние шипиковые нейроны, нейрональная дифференцировка, болезнь Хантингтона, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, нейрональные предшественники*

Мотивация и цели: Направленная дифференцировка индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) человека представляет собой удобную модель для исследований нейрогенеза, различных патологических процессов при нейродегенеративных заболеваниях и скрининга лекарственных соединений. Основными признаками нейродегенеративных расстройств является прогрессирующая гибель узкоспециализированных типов нейронов. Так, при болезни Хантингтона поражаются главным образом средние шипиковые нейроны (СШН) стриатума. Основными проблемами при получении специализированных нейронов из ИПСК являются низкая эффективность дифференцировки и небольшой выход целевых типов клеток.

Методы и алгоритмы: Протокол дифференцировки состоит из двух этапов. Первый этап – нейрональная индукция ИПСК и получение общих нейральных предшественников, экспрессирующих маркеры SOX1, PAX6 и OTX2. Второй этап – культивирование клеток на стадии предшественников СШН с последующей дифференцировкой в СШН путем добавления нейротрофических факторов.

Результаты: Разработан эффективный протокол направленной дифференцировки ИПСК в СШН, по которому получены предшественники, дифференцирующиеся в ГАМКергические зрелые СШН, экспрессирующие DARPP32.

Заключение: Преимуществом разработанного протокола является продолжительное культивирование и криоконсервация клеток на стадии предшественников СШН, позволяющие многократно увеличить выход СШН при терминальной дифференцировке. Данные преимущества являются значимыми как для фундаментальных исследований, так и для масштабных скрининговых исследований.

Благодарности: Работа поддержана грантом РНФ № 16-15-10128.

ДУПЛИКАЦИЯ ГЕНОМА В ЭВОЛЮЦИИ ЖИВОТНЫХ

К.С. Задесенец, Н.Б. Рубцов*

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: rubt@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: эволюция, дупликация генома, ДНК-библиотеки, полногеномное секвенирование, модельные виды

Мотивация и цель: Следы полногеномной дупликации (Whole Genome Duplication, WGD), выявленные в большинстве геномов изученных видов, указывают на важную роль WGD при крупных эволюционных преобразованиях. Настоящая работа посвящена поиску модельных видов, изучение которых позволило бы выяснить особенности первого этапа эволюции генома после его дупликации.

Методы и алгоритмы: Сравнительный анализ близкородственных видов, отличающихся дополнительным раундом полной дупликации генома: сравнительный кариологический анализ, создание хромосомоспецифических ДНК-библиотек, супрессионная *in situ* гибридизация, секвенирование хромосомоспецифических ДНК-библиотек.

Результаты: Ранее были выявлены несколько видов рыб и амфибий, в эволюции геномов которых WGD имела место в «недалеком» прошлом. Сравнительный геномный анализ этих видов осложнен большим исходным числом хромосом и большим размером генома. Нами описана WGD у свободноживущего плоского червя *Macrostomum lignano* [1]. Геномы близкородственных ему видов не прошли этот раунд WGD, что указывает на недавнее удвоение его генома. Небольшое число хромосом у *M. lignano* ($2n = 8$) и относительно небольшой размер его генома значительно упростили получение хромосомоспецифических ДНК-библиотек этого вида. Дополнительные возможности в изучении WGD и последующей реорганизации генома открываются благодаря недавнему описанию нового близкого *M. lignano* вида, видимо, представляющего собой скрытый гексаплоид общего с *M. lignano* предка [1, 2].

Заключение: Особенности кариотипа и генома *M. lignano*, наряду с простотой его содержания и разведения в лабораторных условиях, наличием лабораторных линий и аутбредных культур [2], делают его практически идеальным объектом для изучения ранних этапов эволюции генома после его дупликации.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 16-34-60027.

Список литературы

1. Zadesenets K.S., Schärer L., Rubtsov N.B. (2017) New insights into the karyotype evolution of the free-living flatworm *Macrostomum lignano* (Platyhelminthes, Turbellaria). *Sci. Rep.* (in press).
2. Zadesenets et al. (2016) Evidence for karyotype polymorphism in the free-living flatworm, *Macrostomum lignano*, a model organism for evolutionary and developmental biology. *PLoS ONE*. 11:e0164915.

МУЛЬТИЛОКУСНОЕ ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ИЗОЛЯТОВ СИМБИОТИЧЕСКОЙ БАКТЕРИИ *WOLBACHIA*, ВЫЯВЛЕННЫХ У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ SIPHONAPTERA

Ю.Ю. Илинский^{1, 2*}, М.А. Юдина^{1, 2}

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*e-mail: paulee@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: *Wolbachia*, *Siphonaptera*, мультилокусное генотипирование

Мотивация и цели: Бактерии рода *Wolbachia* относятся к группе матерински-наследуемых симбионтов, которые широко распространены среди наземных членистоногих. Генетическое разнообразие *Wolbachia* подразделяется на более чем полтора десятка филетических линий (супергруппы), две из которых наиболее часто выявляются у насекомых, а остальные значительно ограничены в своем распространении. Изоляты *Wolbachia*, выявленные у представителей Siphonaptera, слабо охарактеризованы в отношении их филетической принадлежности. Мы проводим подробное мультилокусное типирование изолятов симбионта, обнаруженных у различных видов блох, с целью определения их филетической принадлежности и описания генетического паттерна.

Методы и алгоритмы: В анализе использовали инфицированные экземпляры 18 видов блох. Для каждого изолята секвенировали девять локусов *Wolbachia*, а именно *gatB*, *coxA*, *hcpA*, *ftsZ*, *fbpA*, *wsp*, *16SrRNA*, *groEl* и *gltA*. В качестве референсных аллелей использовали охарактеризованные нами наборы нуклеотидных последовательностей, полученные из открытых баз данных. Филогенетический и рекомбинационный анализ проводили как для конкатинированных последовательностей, так и для каждого локуса по отдельности. В работе использованы следующие пакеты программ: MEGA 6, ClonalFrame, SplitsTree4, eBurst, RDP4.

Результаты: Большинство обнаруженных в этой работе аллелей оказались уникальными, ранее не описанными. Филогенетический анализ изолятов бактерии показал, что многие из них принадлежат супергруппе А, представители которой часто встречаются у насекомых. Для некоторых изолятов, а в отдельных случаях для отдельных аллелей, получены свидетельства их принадлежности к новым или редким супергруппам *Wolbachia*. Обнаружены свидетельства рекомбинационного происхождения некоторых исследуемых гаплотипов *Wolbachia*.

Благодарности: Поддержано РФФИ № 16-04-00980 и БП № 0324-2016-0002.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА В ОРГАНИЗАЦИИ РАСТУЩЕЙ ЯДЕРНОЙ ОБОЛОЧКИ

Е.В. Киселева

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

e-mail: elka@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: эндоплазматический ретикулум, ядерная оболочка, интерфазное ядро, сборка ядерных пор, ооциты амфибий, слюнные железы *Drosophila*

Мотивация и цели: Роль эндоплазматического ретикулума (ЭПР) и механизм сборки ядерной оболочки (ЯдО) в процессе митоза почти изучены, однако этапы формирования ее новых фрагментов в растущих интерфазных ядрах во многом остаются *terra incognita*. Предполагается, что источником новых мембран в оболочке являются цистерны и пузырьки ЭПР, сливающиеся с ее наружной мембраной [1]. Известно, что в слиянии различных мембран принимают участие белки ЭПР ретикулоны, стабилизирующие изгиб мембран в участках сплавления [2]. Целью настоящей работы являлось исследование механизма взаимодействия различных компартментов ЭПР с ЯдО и определение последовательных этапов реорганизации ядерной оболочки в растущих ооцитах амфибий и клетках слюнных желез *Drosophila*, проходящих с участием мембран ЭПР.

Методы и алгоритмы: Использован модифицированный метод выделения ядер из клеток в комбинации с просвечивающей, высокоразрешающей сканирующей и иммуноэлектронной (антитела к ретикулону Rt4) микроскопией.

Результаты: Впервые продемонстрировано существование двух механизмов слияния мембран ЭПР с наружной мембраной ЯдО. Первый включает контакт и слияние крупных компартментов (везикул или цистерн) ЭПР диаметром более 500 нм с наружной мембраной ядра, с последующим перетеканием периферических участков мембран ЭПР через расположенные по периферии множественные ядерные поры на внутреннюю мембрану ЯдО. В результате формируются свободные от ядерных пор протяженные участки, как со стороны цитоплазмы, так и со стороны ядра, что обеспечивает быстрое формирование большого числа новых ядерных пор. Второй механизм связан с локальным слиянием одиночных мелких пузырьков ЭПР диаметром около 200 нм с единичными ядерными порами, что обеспечивает пространство для сборки только одной поры. Пузырьки ЭПР отличаются по содержанию Rt4 и способны сливаться как с наружной мембраной ядра, так и между собой. В свободных пузырьках белки распределены по всей поверхности мембран, а при слиянии ЭПР с ЯдО они перемещаются в участки сплавления мембран.

Заключение: Представлены доказательства существования двух механизмов взаимодействия мембранных компартментов ЭПР с наружной мембраной ЯдО, приводящих к формированию новых фрагментов оболочки ядра разной площади, в зависимости от размера компартмента ЭПР. Это свидетельствует о важной роли ЭПР и входящего в его состав Rt4 в организации растущего интерфазного ядра.

Список литературы

1. Antonin W. (2009). Nuclear envelope: membrane bending for pore formation? *Curr. Biol.* 19(10):R410-2.
2. Chen S., Novick P., Ferro-Novick S. (2013). ER structure and function. *Curr. Opin. Cell Biol.* 4:428-33.

МЕТОД ПОЛНОГЕНОМНОГО АНАЛИЗА ЭФФЕКТА ПОЛОЖЕНИЯ ГЕНА В КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТКАХ *DROSOPHILA*

М.О. Лебедев*, Л.А. Яринич, А.В. Пиндюрин

Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: m.lebedev@mcb.nsc.ru

Ключевые слова: *Drosophila melanogaster*, ДНК-штрихкод, эффект положения

Мотивация и цели: Выяснение механизмов регуляции активности генов является одной из главных задач молекулярной и системной биологии. Уровень экспрессии каждого гена определяется его специфической последовательностью ДНК, обеспечивающей привлечение определенного набора транскрипционных факторов, а также влиянием локального окружения хроматина. Ранее разработанный метод TRIP (Thousands of Reporters Integrated in Parallel) [1] позволяет измерять вклад локального окружения хроматина в уровень транскрипционной активности генов в масштабе генома. Этот метод основан на анализе активности тысяч ДНК-штрихкодированных репортерных генов, интегрированных в различные районы генома с помощью системы транспозона piggyBac, и был изначально разработан для культивируемых клеток мышей.

Результаты: Нами оптимизирован метод TRIP для его использования на культивируемых клетках дрозофилы, представляющих собой удобные и хорошо охарактеризованные модельные системы [2, 3]. Во-первых, мы значительно улучшили эффективность трансфекции культивируемых клеток *Drosophila* и подобрали оптимальные условия для сильной кратковременной экспрессии транспозазы piggyBac. Далее мы выбрали несколько конститутивных и индуцируемых промоторов генов *Drosophila* для TRIP-анализа и сконструировали плазмиды на основе транспозонов piggyBac, кодирующие зеленый флуоресцентный белок под контролем выбранных промоторов. Каждая из этих конструкций уникально маркирована, что позволяет выполнить одновременный сравнительный анализ активности различных промоторов в одном TRIP-эксперименте. Мы охарактеризовали эписомальную активность таких конструкций в культивируемых клетках Kc167 и S2. Затем на основе каждой репортерной конструкции мы создали ДНК-штрихкодированные плазмидные библиотеки с большим числом (>250 тыс.) уникальных клонов. Наконец, мы использовали смесь таких плазмидных библиотек для создания пулов трансгенных клеток Kc167 и S2, содержащих по меньшей мере один интегрированный репортер на клетку, которые будут использоваться для последующих измерений транскрипционной активности репортеров.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-14-10288.

Список литературы

1. Akhtar W. et al. (2013) Chromatin position effects assayed by thousands of reporters integrated in parallel. *Cell*. 154(4):914-927.
2. Filion G.J. et al. (2010) Systematic protein location mapping reveals five principal chromatin types in *Drosophila* cells. *Cell*. 143(2):212-224.
3. Kharchenko P.V. et al. (2011) Comprehensive analysis of the chromatin landscape in *Drosophila melanogaster*. *Nature*. 471(7339):480-485.

ПОЛУЧЕНИЕ ЛИНИИ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК МЫШИ С МАРКИРОВАННОЙ GFP ЭКСПРЕССИЕЙ БЕТА-ТУБУЛИНА КЛАССА 3

А.Г. Мензоров^{1, 2*}, К.Е. Орищенко^{1, 3}, А.А. Шевцова³, Е.А. Кизилова¹,
А.Н. Голубица¹, А.И. Железова¹, Н.М. Матвеева¹, Н.Р. Баттулин¹, Н.Б. Рубцов¹,
О.Л. Серов¹

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Институт живых систем БФУ им. И. Канта, Калининград, Россия

*e-mail: menzorov@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: плюрипотентность, эмбриональные стволовые клетки, бета-тубулин, нейроны, дифференцировка

Мотивация и цели: Одно из ключевых направлений современной биологии – изучение нейрогенеза. Дифференцировка эмбриональных стволовых (ЭС) клеток позволяет изучать нейрогенез *in vitro*. Мы решили маркировать нейрональные клетки, экспрессирующие паннейрональный белок bTubb3, с помощью зеленого флуоресцентного белка EGFP.

Методы и алгоритмы: Для получения нейрональных клеток, маркированных EGFP, мы использовали линию ЭС клеток мыши DGE51 из ЦКП «Коллекция клеточных линий животных и человека для проведения фундаментальных исследований в области генетики и биомедицины» (Коллекция) ФИЦ ИГиГ СО РАН. Мы решили маркировать экспрессию bTubb3, встроив ген EGFP в открытую рамку считывания bTubb3 через последовательность, кодирующую 2A пептид, взамен стоп-кодона. Такая стратегия позволила сохранить все регуляторные элементы этого гена. Для адресной модификации генома мы использовали метод TALEN.

Результаты: Получены трансгенные ЭС клетки со встройкой генетической конструкции под эндогенный промотор гена *bTubb3*. Дифференцировка в монослое [1] позволила получить клетки с экспрессией EGFP. Иммуоцитохимическое окрашивание подтвердило колокализацию EGFP и маркеров нейронов bTubb3, NF200 и MAP2.

Заключение и доступность: Нейроны, полученные из ЭС клеток путем дифференцировки, экспрессируют EGFP. Это позволяет изучать нейрогенез как *in vitro*, так и *in vivo*, после получения трансгенных мышей. Линии ЭС клеток доступны в Коллекции: <http://cells.biores.cytogen.ru/cells/> и <http://ckp.icgen.ru/cells/>.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке ГП 14 по теме «Коллекции клеточных линий животных и человека для проведения фундаментальных исследований в области генетики и биомедицины» (0324-2016-0005).

Список литературы

1. Pacherník J. et al. (2002) Neural differentiation of mouse embryonic stem cells grown in monolayer. *Reprod. Nutr. Dev.* 42(4):317-326.

СПОСОБЫ РЕГУЛЯЦИИ ДЛИНЫ ТЕЛОМЕР В КЛЕТКАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Ю.М. Минина*, Н.С. Жданова

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: minina_jul@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: теломеры, теломераза, гомологичная рекомбинация, ALT

Теломеры, благодаря особенностям своей структуры, предохраняют хромосомы от нежелательной репарации концов, обеспечивая стабильность генома. Важной характеристикой теломер является их длина, которая меняется в ходе онтогенеза и при различных патологиях. Известно два способа регуляции длины теломер: с помощью специального ферментного комплекса теломеразы (Т) и с помощью альтернативного удлинения теломер (ALT), основанного на гомологичной рекомбинации (ГР) ДНК. Считалось, что ALT используют только 15–20 % опухолей без активной Т. Однако недавно появились данные о рекомбиногенных теломерах в нормальных клетках млекопитающих. Было показано, что с помощью ГР конструкция, содержащая теломерные повторы и встроенная в теломеру одной хромосомы клона ЭСК мыши, копировалась в дальнейшем в разные хромосомы у разных мышей [1]. Более того, было показано, что межхромосомная ГР происходит с одинаковой частотой в Т-зависимых и ALT клетках [2]. В первичных фибробластах одного из видов бурозубок *Sorex granarius* [3] были выявлены признаки ALT, несмотря на довольно высокую активность Т. Интересно, что в ходе эмбриогенеза происходит смена рекомбинационного и Т-зависимого путей удлинения теломер на стадии имплантации [4]. Приведенные выше данные свидетельствуют о том, что ГР между теломерами может происходить как в нормальных клетках млекопитающих, так и в Т-зависимых опухолевых клетках. По-видимому, факторы, влияющие на выбор клеткой пути преодоления репликативного кризиса, могут также влиять на объем экспрессии ГР в Т-зависимых клетках.

Список литературы

1. Neumann A.A., Watson C.M., Noble J.R. et al. (2013) Alternative lengthening of telomeres in normal mammalian somatic cells. *Genes Dev.* 27:18-23.
2. Dłaska M., Schöffski P., Bechter O.E. (2013) Inter-telomeric recombination is present in telomerase-positive human cells. *Cell Cycle.* 12:2084-99.
3. Zhdanova N.S., Draskovic I., Minina J.M. et al. (2014) Recombinogenic telomeres in diploid fibroblast cells *Sorex granarius* (Soricidae, Eulipotyphla). *Mol. Cell. Biol.* 34:2786-2799.
4. Ozturk S., Sozen B., Demir N. (2014) Telomere length and telomerase activity during oocyte maturation and early embryo development in mammalian species. *Mol. Hum. Reprod.* 20:15-30.

ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ УЛЬТРАСТРУКТУРНОЙ РЕОРГАНИЗАЦИИ КЛЕТОК С ДЕЛЕЦИЯМИ И ВСТРОЙКАМИ В ГЕН ХАНТИНГТОНА

К.Н. Морозова*, Л.А. Сульдина, Т.Б. Маланханова, А.А. Малахова, С.М. Закиян,
Е.В. Киселева

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: morozko@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: болезнь Хантингтона, мутации, электронная микроскопия, ультраструктура клеток, митохондрии

Мотивация и цели: Болезнь Хантингтона, характеризующаяся нарушением двигательной активности и когнитивными расстройствами, обусловлена экспрессией мутантного белка хантингтина (НТТ), несущего удлинённый полиглютаминовый тракт в N-концевом домене, что препятствует нормальному фолдингу белка и приводит к гибели средних шипиковых нейронов [1]. С использованием системы CRISPR/Cas9 нами были созданы изогенные клеточные линии из почки человека, различающиеся аллельными вариантами целевого гена, что позволило исключить влияние генетического фона на протекание молекулярных процессов, связанных с функционированием мутантного белка НТТ. Целью данной работы было провести сравнительный анализ морфологии клеток линии НЕК293 Phoenix с искусственно внесёнными мутациями – делециями и встройками в ген *HTT*.

Методы и алгоритмы: Электронно-микроскопический анализ строения клеток линии НЕК293 Phoenix и клеток, созданных на ее основе мутантных линий.

Результаты: В настоящей работе проведен ультраструктурный анализ влияния встроек и делеций в ген *HTT* на морфологию клеток линии НЕК293 Phoenix. Введение одиночных делеций в ген *HTT* практически не изменяет строение клеток линии НЕК293 Phoenix, однако отмечается более частый контакт ЭПР с митохондриями. Встройки CAG повторов в ген *HTT* приводят к серьезным нарушениям, затрагивающим в первую очередь митохондриальный аппарат, отвечающий за энергетический обмен, а также организацию ядер и морфологию других внутриклеточных структур. При увеличении размера встройки степень нарушений увеличивается. Введение делеции с последующей встройкой повторов снижает уровень митофагии. Отсутствие нормального аллеля при введении встроек вызывает дополнительно активацию лизосомальной системы и последующую гибель клеток.

Заключение: Мутации в гене *HTT* приводят к серьезным нарушениям, проявляющимся на ультраструктурном уровне дефектами митохондрий, нарушением организации ядер и других клеточных структур. Увеличение размеров встроек в ген *HTT* сопровождается ростом негативных изменений морфологии клеток.

Благодарности: Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ № 16-15-10128.

Список литературы

1. Wu L.L., Zhou X.F. (2009) Huntingtin associated protein 1 and its functions. *Cell Adh. Migr.* 3:71-76.

УЧАСТИЕ КОМПОНЕНТОВ КОМПЛЕКСА NSL В ДЕЛЕНИИ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТОК *DROSOPHILA*

Ю.В. Попова^{1,2*}, Г.А. Павлова^{1,3}, А.В. Разуваева^{1,4}, Т.А. Невзорова³,
А.В. Пиндюрин^{1,2}, М. Гатти¹

¹ Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

² ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

³ Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

⁴ Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*e-mail: popova@mcb.nsc.ru

Ключевые слова: *Drosophila*, митоз, веретено деления, кинетохоры, хроматин

Мотивация и цели: Консервативные белковые комплексы KAT8-associated Non-specific Lethal (KANSL) млекопитающих и Nonspecific Lethal (NSL) дрозофилы являются важными регуляторами структуры и транскрипционной активности хроматина. В частности, у человека мутации генов, кодирующих компоненты комплекса KANSL, связаны с рядом тяжелых заболеваний. На сегодняшний день функции комплексов KANSL и NSL описаны только для инферфазного ядра, и практически ничего не известно об их участии в процессе митотического деления клеток. При этом известно, что некоторые белки хроматина играют также существенную роль в сборке митотического веретена деления, в частности, путем индуцирования зарождения и стабилизации микротрубочек в области хромосом (кинетохоров). Цель данной работы заключалась в установлении участия основных компонентов комплекса NSL – белков MBD-R2, Rcd1 и Rcd5 – в делении культивируемых клеток *Drosophila melanogaster* линии S2.

Результаты: При индивидуальной РНК-интерференции генов *MBD-R2*, *Rcd1* и *Rcd5* наблюдаются серьезные митотические нарушения, такие как остановка деления на стадии метафазы и наличие так называемых псевдо-ана/телофаз, которые являются следствием некорректного разделения и расхождения сестринских хроматид. Также выявляются достоверные различия между длиной веретена деления в контрольных (необработанных) клетках и в клетках со сниженным количеством белков MBD-R2, Rcd1 и Rcd5. Кроме того, РНК-интерференция генов *MBD-R2*, *Rcd1* и *Rcd5* приводит к снижению количества транскриптов генов *cid* и *Mitch*, которые кодируют кинетохорные компоненты, что приводит к исчезновению последних из большинства проанализированных клеток, причем наиболее сильный эффект наблюдается при снижении количества белка MBD-R2, а наиболее слабый – при снижении количества белка Rcd5. Наконец, было установлено, что основные компоненты комплекса NSL влияют на экспрессию друг друга. Так, например, при снижении количества белка MBD-R2 увеличивается транскрипционная активность генов *Rcd1* и *Rcd5*, а при снижении количества белка Rcd1, наоборот, повышается транскрипционная активность гена *MBD-R2*.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке гранта Правительства Российской Федерации № 14.Z50.31.0005.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТОВ АКТИВАЦИИ ФАКТОРА, ИНДУЦИРУЕМОГО ГИПОКСИЕЙ, НА АНГИОГЕННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

А.М. Смирнова^{1, 2, 3*}, М.К. Живень^{2, 3, 4}, И.С. Захарова^{2, 3, 4}, А.И. Шевченко^{1, 2, 3, 4},
Е.А. Елисафенко^{2, 3, 4}, С.М. Закиян^{1, 2, 3, 4}

¹Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

²ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

³Новосибирский НИИ патологии кровообращения им. Е.Н. Мешалкина Министерства здравоохранения РФ, Новосибирск, Россия

⁴Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: ann777sm@yandex.ru

Ключевые слова: HIF, плюрипотентные стволовые клетки человека, направленная дифференцировка, гипоксия, эндотелий

Фактор, индуцируемый гипоксией (HIF) – ДНК-связывающий транскрипционный фактор, играющий ключевую роль в регуляции ангиогенеза. В настоящее время модуляция HIF-пути является перспективной терапевтической стратегией для управления различными заболеваниями. Данная работа посвящена влиянию активации HIF-альфа в нормоксических условиях, реализованной с использованием системы CRISPR/Cas9, в плюрипотентных стволовых клетках (ПСК) человека на ангиогенные свойства их эндотелиальных производных. Разрабатывается модель взаимосвязи активации HIF-альфа в ПСК человека на реализацию ангиогенных сигнальных каскадов в их дифференцированных эндотелиальных производных. Исследуются эффекты повышения экспрессии и стабилизации субъединиц HIF-1альфа и HIF-2альфа в эндотелиальных производных ПСК человека. Подобраны последовательности направляющих РНК для сайленсинга *INT6/eIF3* – ингибитора HIF-2α – с использованием системы CRISPR/Cas9. Последовательности направляющих РНК, предназначенные для ингибирования *INT6/eIF3* и сверхэкспрессии HIF-2альфа, заклонированы в векторы и доставлены в ИПСК человека линии iMA-1L с помощью нуклеофекции. Методом проточной цитометрии произведен сортинг GFP-позитивных колоний, содержащих целевую встройку, проведены раунды субклонирования. Получены генетически модифицированные ПСК человека с делецией размером 200 п. н., включающей точку старта транскрипции и начало первого экзона *INT6/eIF3*.

Результаты данного исследования внесут значительный вклад в понимание фундаментальных молекулярных механизмов HIF-зависимого ангиогенеза, расширят представления о сигнальных каскадах, запускаемых при целевой активации HIF, что необходимо для разработки эффективных стратегий модуляции экспрессии HIF для терапевтического ангиогенеза и лечения ряда онкологических заболеваний.

ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ 2Н-БЕНЗИМИДАЗОЛ-1,3-ДИОКСИДОВ НА ПРОЛИФЕРАЦИЮ КЛЕТОК *D. MELANOGASTER*

С.А. Фёдорова^{1*}, Ю.А. Тен², С.Ю. Грищенко², Д.Г. Мажукин², В.А. Самсонов²

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский институт органической химии СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: fsveta@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: сепараза, сегрегация хромосом, противоопухолевый препарат

Мотивация и цели: Сепараза является ключевым ферментом, отвечающим за правильную сегрегацию хромосом в делении клетки. Сестринские хромосомы могут разойтись по дочерним клеткам только после активации сепаразы, ее преждевременная активация вызывает различные хромосомные аномалии. У человека сепараза кодируется геном *Esp11*, высокий уровень его экспрессии был выявлен во многих опухолях, включая различные нейробластомы, рак груди, костей, мозга и простаты. Недавно было предложено использовать сепаразу как потенциальную мишень для поиска новых противоопухолевых препаратов. Был проведен скрининг и найден ингибитор сепаразы сепин-1, добавление которого к культуре клеток *in vitro* приводило к ингибированию роста клеток нейробластомы, лейкемии и клеток опухоли молочной железы. Однако главные минусы сепина-1 – его плохая растворимость в водных растворах и его нестабильность при температуре человеческого тела, поэтому актуальным является получение стабильных и активных модификаций сепина-1. В рамках данной работы мы проанализировали влияние некоторых модификаций сепина-1 на делящиеся нейробласты дрозофилы.

Методы и алгоритмы: Источником для модификаций сепина-1 служили производные 2Н-бензимидазол-1,3-диоксидов, которые в разных концентрациях (20, 200, 300 и 400 мкг/мл) добавлялись в корм с личинками дрозофилы. Через 5 дней инкубации проводился анализ деления личиночных нейробластов, для чего оценивалось распределение клеток по стадиям митоза и наличие аномалий деления.

Результаты: В митозе сепараза активна в конце стадии метафазы, когда она разрезает когезиновый комплекс, удерживающий гомологичные хромосомы вместе. Если тестируемое вещество ингибировало сепаразу, то мы ожидали увидеть накопление клеток на стадии метафазы и, соответственно, снижение процентного содержания клеток на стадии анафазы. Все протестированные нами модификации демонстрировали накопление клеток на стадии метафазы. Однако следует отметить, что при высоких концентрациях всех ингибиторов наблюдались появление монополярных анафаз, анеуплоидных клеток и разрывы хромосом.

Заключение: Таким образом, все проанализированные модификации сепина-1 проявляли ингибиторную активность для сепаразы, что приводило к задержке клеток на стадии метафазы. Однако появление аномалий деления в нормальных клетках при высоких концентрациях всех ингибиторов свидетельствует о необходимости поиска других модификаций сепина-1, не имеющих подобных побочных эффектов.

МУТАЦИИ ГЕНА *Trl*, КОДИРУЮЩЕГО GAGA-ФАКТОР ДРОЗОФИЛЫ, ВЫЗЫВАЮТ ПРЕЖДЕВРЕМЕННУЮ МИГРАЦИЮ КЛЕТОК ЗАРОДЫШЕВОГО ПУТИ

А.С. Хрущева*, Н.В. Дорогова, Э.М. Баричева

Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: foundmelater@gmail.com

Ключевые слова: *дрозофила*, ген *Trithorax-like*, клетки зародышевого пути, эмбриогенез, гонады, клеточная миграция

Мотивации и цели: Миграция примордиальных зародышевых клеток (ПЗК) – один из самых важных этапов гонадогенеза и образования предшественников половых клеток. Данный процесс эволюционно консервативен, является гомологичным для различных клеточных типов, органов, тканей. Более того, миграция ПЗК по многим характеристикам повторяет особенности движения клеток иммунной системы и метастазирующих опухолей. Ранее было показано, что GAGA-фактор, кодируемый геном *Trl*, участвует в развитии клеток зародышевого пути самцов дрософилы. Таким образом, целью данной работы было изучение причин и характера нарушений миграции клеток зародышевого пути у мутантов по гену *Trl*.

Методы и алгоритмы: В работе проводилась фиксация и окраска эмбрионов антителами, затем проводился анализ и фотографирование препаратов. Использовались линии с нуль-аллелем *Trl* и линии с гипоморфными мутациями, снижающими экспрессию гена *Trl*.

Результаты: Нами проведен цитологический скрининг ранних этапов развития зародышевых клеток. У мутантов *Trl* ПЗК приобретают морфологию мигрирующих клеток на более ранних стадиях развития эмбриона. Данная мутация вызывает преждевременную активизацию миграции ПЗК, вследствие чего они эктопически перемещаются вглубь эмбриона. При дезориентированной миграции не все клетки достигают области, где формируются гонады, что приводит к уменьшению числа зародышевых клеток в гонадах личинок и имаго. У мух с наиболее сильной мутантной комбинацией формируются мелкие зачатки гонад, которые содержат в два раза меньше зародышевых клеток, чем в диком типе. Остальные зародышевые клетки хаотично расположены в различных областях эмбриона.

Заключение и доступность: В данной работе была изучена роль GAGA-фактора в миграции клеток зародышевой линии и его влияние на формирование гонад в эмбриогенезе дрософилы. Мутации в гене *Trl*, кодирующем GAGA-фактор, приводят к преждевременному запуску программы активной эктопической миграции, что приводит к дезориентации части ПЗК и формированию гонад с недостаточным количеством зародышевых клеток.

СИМБИОТИЧЕСКИЕ АССОЦИАЦИИ *WOLBACHIA*- HYMENOPTERA: ИНФИЦИРОВАННОСТЬ И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ИЗОЛЯТОВ БАКТЕРИИ

М.А. Юдина^{1,2*}, Ю.Н. Данилов³, К.А. Белова², А.Е. Костюнин³,
Ю.Ю. Илинский^{1,2}

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: Judina@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: *Hymenoptera*, *Wolbachia*, мультилокусное генотипирование

Мотивация и цели: Матерински наследуемые бактерии рода *Wolbachia* встречаются у членистоногих и нематод. Несмотря на широкую распространенность бактерии среди наземных членистоногих, многие семейства насекомых остаются неисследованными на присутствие бактерии. Целью нашего исследования было выявление фактов инфицированности и определение генетического разнообразия эндосимбиотической бактерии *Wolbachia* в малоизученных таксономических группах отряда Hymenoptera. Для этого в анализ взяты представители семейств Sphecidae и Crabronidae, которые относятся к подотряду Aporicta, и семейства Argidae, Cephidae, Cimbicidae, Pamphiliidae и Tenthredinidae, относящиеся к подотряду Symphyta. Для представителей семейства Crabronidae данные об инфицированности *Wolbachia* в литературе отсутствуют, а для остальных групп данные крайне скудны.

Методы и алгоритмы: Общая коллекция перепончатокрылых насекомых, собранная в 2012–2016 гг. на территории Кавказа, Западной Сибири и Дальнего Востока, насчитывает 46 видов и 306 образцов. Тотальную ДНК выделяли индивидуально из каждого образца, статус инфицированности устанавливали с помощью *Wolbachia*-специфичных праймеров к гену *16SrRNA*. Генетическое разнообразие *Wolbachia* определяли по протоколу мультилокусного генотипирования (MLST). Филогенетический анализ проводили с использованием программы MEGA 6.

Результаты: *Wolbachia* обнаружена только у 6 видов подотряда Symphyta, которые относятся к семействам Argidae, Tenthredinidae и Cephidae. Пять из шести выявленных MLST-гаплотипов *Wolbachia* оказались уникальными, и один (ST-19) широко распространен среди насекомых. Филогенетический анализ *Wolbachia* обнаружил принадлежность трех изолятов *Wolbachia* к супергруппе А и трех – к супергруппе В.

Благодарности: Поддержано РФФИ № 16-04-00980 и БП № 0324-2016-0002.

GENETIC VARIATION OF HAEMOSPORIDIAN PARASITES OF SONGBIRDS, PASSERIFORMES IN BEYDAGLARI, TURKEY

T. Albayrak*, T. Tunçel

Mehmet Akif Ersoy University, Science and Art Faculty, Department of Biology, Lab of Ornithology, Burdur, Turkey

**e-mail: albayraktamer@gmail.com*

Key words: *genetic variation, Turkey, avifauna, Haemosporidian, blood parasites*

Motivation and Aim: Genetic variation of haemosporidian parasites were studied by capturing songbirds, Passeriformes using mist nets in Beydağları, Turkey.

Methods: Prevalence of the haemosporidian parasites was characterized by analyzing partial sequence of the mitochondrial cytochrome b gene of 123 songbirds from Beydağları Mountains during 2014–2015.

Results: Genetic variation of haemosporidian parasites were found depending on the songbird species. Specific haplotypes were found among the species in Turkey. The genetic structures are consistent with the isolation of these populations during the glacial refugia.

Conclusion: Our results show that the level of the genetic diversity of haemosporidian parasites of songbirds is important for global level.

Acknowledgements: This study was supported by MAKU BAP (0318-NAP-16).

REVEALING OF THE CHROMOSOME SYNTENY REGIONS BETWEEN STERLET (*ACIPENSER RUTHENUS*) AND SPOTTED GAR (*LEPISOSTEUS OCULATUS*)

D.A. Andreyushkova^{1*}, A.I. Makunin¹, V.R. Beklemisheva¹, S.A. Romanenko^{1,2}, A.S. Druzhkova^{1,2}, A.I. Kulemzina¹, L.S. Biltueva¹, N.A. Serdyukova¹, A.S. Graphodatsky^{1,2}, V.A. Trifonov^{1,2}

¹ Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

*e-mail: ada@mcb.nsc.ru

Key words: *Sterlet*, *spotted gar*, *microdissection*, *FISH*, *MiSeq*, *alignment*, *synteny regions*

Motivation and Aim: *Sterlet* (*Acipenser ruthenus*), likewise other *Acipenseridae*, has high chromosome number in karyotype ($2n = 120$). Being a paleotetraploid, *sterlet* still undergoes rediploidization process [1]. This fact makes *sterlet* a very important object for genome studies, in particular, for comparative cytogenetics. *Spotted gar* (*Lepisosteus oculatus*, *Holostei*) is the only non-teleost ray-finned fish, which genome was sequenced and assembled [2]. Therefore it is interesting to compare the genomes of these two basal and slowly evolving species.

Methods and Algorithms: We have obtained a set of *sterlet* chromosome-specific libraries using microdissection and whole genome amplification (WGA) [1]. To test these libraries we created fluorescent probes and hybridized them on *sterlet* metaphase spreads (FISH). The libraries were sequenced on Illumina MiSeq platform. Reads were aligned to *spotted gar* genome using an algorithm published before [3], which was developed for DOP and WGA libraries.

Results: The fluorescent probes obtained painted from one to two pairs of *sterlet* chromosomes, depending on ploidy status. The alignment analysis revealed the synteny regions for these libraries between two species. Using these data, we are able to estimate some chromosomal rearrangements, occurred in their common ancestor on the early stages of ray-finned fish evolution.

Conclusion: Applying cytogenetic and bioinformatics approaches together, we may compare the genomes of *sterlet* and *spotted gar*, despite they diverged about 360 million years ago. This study will be developed by analyzing of the libraries of other *sterlet* chromosomes.

Acknowledgements: The work was supported by RSF grant No. 14-14-00275.

References

1. Romanenko S.A. et al. (2015) Segmental paleotetraploidy revealed in *sterlet* (*Acipenser ruthenus*) genome by chromosome painting. *Mol. Cytogenet.* 8:90.
2. Braash I. et al. (2016) The spotted gar genome illuminates vertebrate evolution and facilitates human-teleost comparisons. *Nature Genetics.* 48:427-437.
3. Makunin A.I. et al. (2017) Contrasting origin of B chromosomes in two cervids (Siberian roe deer and grey brocket deer) unravelled by chromosomespecific DNA sequencing. *BMC Genomics.* 17:618.

TRANSCRIPTOME-WIDE EFFECTS OF INACTIVATION AND PRIONIZATION OF SWI1 PROTEIN IN YEAST *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

K.S. Antonets^{1,2*}, S.F. Kliver^{1,2}, D.E. Polev¹, E.A. Andreeva¹, A.R. Shuvalova¹, S.G. Inge-Vechtomov¹, A.A. Nizhnikov^{1,2}

¹ St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

² All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, St. Petersburg, Pushkin, Russia

*e-mail: kirantonez@gmail.com

Key words: amyloid, prion, RNAseq, *Swi1*, yeast, *Saccharomyces cerevisiae*

Motivation and Aims: Prions are proteins that can exist in the same conditions in two or more conformations, at least one of which is infectious. Though prions were initially identified as the lethal pathogens, currently it is clear that prions may also be functional. [*SWI*⁺] is a prion of the transcriptional regulator *Swi1*, which is a component of evolutionary-conservative chromatin remodeling complex SWI/SNF in yeast *Saccharomyces cerevisiae*. In this study, we have investigated the effects of prionization and deletional inactivation of *Swi1* protein at the level of entire transcriptome.

Methods: Yeast strains were grown on the complete media supplemented with glucose as the sole carbon source. RNA libraries were prepared using NEBNext Ultra Direction RNA Library Prep Kit for Illumina and sequenced on HiSeq2500. Expression changes were manually verified for several genes using qPCR.

Results: We sequenced polyA-enriched RNA extracted from [*SWI*⁺], [*swi*⁻], and $\Delta swi1$ strains; each experiment was performed in two independent repeats. As a result, we found more than 60 genes differentially expressed between $\Delta swi1$ and [*swi*⁻] strains. The $\Delta swi1$ strain contains nonsense allele *ade1-14* and exhibits strong nonsense suppressor phenotype. We found that *ADE1* gene is upregulated in $\Delta swi1$ cells. Since overexpression of *ADE1* causes nonsense suppression, this effect explains phenotypic manifestation of *SWI1* deletion. Surprisingly, [*SWI*⁺] strains do not demonstrate significant expression changes in comparison with [*swi*⁻]. It can be explained by the decreased activity of SWI/SNF complex on the media supplemented with glucose.

Conclusion: Typically, prion formation is considered to cause dysfunction of the corresponding protein. Our data show that the effects of prionization and deletional inactivation of *Swi1* protein on yeast transcriptome are not equal; moreover, induction of [*SWI*⁺] does not have significant effect on the functional activity of *Swi1* protein.

Acknowledgements: This work was supported by the grants of the President of the Russian Federation (MK-3240.2017.4) and Russian Foundation for Basic Research (17-04-00816 and 16-34-60153). The authors acknowledge Research Park of SPbSU for the opportunity to use equipment of “Biobank” and “RRCMCT”.

EVIDENCE FOR INVOLVEMENT OF AMYLOIDOGENESIS IN THE VIRULENCE OF ENTEROTOXIC *ESCHERICHIA COLI*

M.V. Belousov^{1*}, S.A. Bondarev¹, A.O. Kosolapova¹, K.S. Antonets^{1,2},
G.A. Zhouravleva¹, A.A. Nizhnikov^{1,2}

¹ St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

² All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, St. Petersburg, Pushkin, Russia

*e-mail: belousovmix@gmail.com

Key words: amyloid, prion, YghJ, metalloprotease, bacteria, *Escherichia coli*

Motivation and Aims: Amyloids represent unbranched protein fibrils with ordered spatial structure called cross-beta. These fibrils were shown to be involved in various pathogenic processes in humans and animals, but also play important functional roles. In *Escherichia coli*, amyloid properties were demonstrated for P-type fimbriae as well as for OmpC membrane protein. We performed proteome-wide screening for amyloidogenic proteins in the *E. coli* proteome and identified YghJ mucin metalloprotease, which is secreted by enterotoxigenic *E. coli* strains, as the candidate for novel amyloid-forming protein. The goal of this study was to analyze amyloid properties of YghJ.

Methods: To express 6His-tagged proteins, Alicant kit (Thermo Scientific) was used. Apple-green birefringence upon binding of amyloids with Congo Red was analyzed under the polarization microscope Leica DMRXA. Morphological studies of amyloids were performed using scanning electron microscope Tescan MIRA3 LMU.

Results: YghJ contains conservative metalloprotease domain (1081–1381 aa), which is functionally active against mucin. We demonstrated that this domain forms detergent-resistant unbranched fibrils causing a shift in the fluorescence of Thioflavine-T dye, which is a particular feature of amyloids. Moreover, YghJ (1081–1381 aa) fibrils bind amyloid-specific dye Congo Red and exhibit apple-green birefringence upon polarized light. These features show that YghJ (1081–1381 aa) is an amyloid-forming protein.

Conclusion: Our data provide evidence that one of the major *E. coli* proteins involved in the intestinal colonization, YghJ, manifests as an amyloid. Amyloid is known to be one of the most stable and resistant variants of the protein quaternary structure. Thus amyloid formation by bacterial virulence factors may potentially represent general mechanism to prevent degradation of these proteins in the host's organism.

Acknowledgements: This work was supported by the grants of the President of the Russian Federation (MK-3240.2017.4 and MK-512.2017.4) and Russian Foundation for Basic Research (16-34-60153). The authors acknowledge Research Park of SPbSU for the opportunity to use equipment of “Chromas” and “RRCMCT”.

THE APPROACH FOR RECONSTRUCTION OF AMYLOID STRUCTURE *IN VIVO*

S.A. Bondarev^{1, 2*}, O.I. Poleshuk¹, G.A. Zhouravleva^{1, 2}, A.V. Kajava^{3, 4}

¹ Department of Genetics and Biotechnology, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

² Laboratory of Amyloid Biology, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

³ Centre de Recherche en Biologie cellulaire de Montpellier, CNRS, Université Montpellier, Montpellier, France

⁴ Institut de Biologie Computationnelle, Montpellier, France

*e-mail: stanislavspbg@gmail.com

Key words: prion, three-dimensional structure, amyloid, Sup35, [PSI⁺]

Motivation and Aim: Prions can be defined as infectious or inherited protein agents which propagation is based on the ability to induce conformational conversion of cellular polypeptides. In most cases prion appearance is linked with formation of amyloid aggregates of certain protein. One of the main problem in the investigations of prions and amyloid aggregates is determination of their structural organization especially *in vivo*. The cross- β structure of most amyloids is built of parallel and in-register stacks of structural elements called β -arches consisting of two β -strands connected by a turn. The size of one β -arch can vary between 15–30 residues. At the same time it is known that a number of amyloid-forming regions reach size of up to 80 residues. In the past few years, a number of experimental data have been suggested that these regions form tandems of adjacent β -arches, called β -serpentes which, in turn, stack to form the superpleated β -structure.

Methods and Algorithms: Recently, a computer program “BetaSerpentine” has been developed that analyze protein sequence and predict structural arrangements of adjacent β -arches, called β -serpentes, and ranks them in order of preference. At the same time we performed precise mutational analysis of SUP35 to determine the protein region forming amyloid fibril for different [PSI⁺] variants.

Results: By using BetaSerpentine together we reconstructed potential β -serpentes of investigated [PSI⁺] variants. For this purpose, we used the intersection of our *in silico* prediction with the experimental data of mutational analysis of Sup35 protein. As a result, the number of the predicted structures were reduced for specific prion variants. Our conclusions are based on data obtained *in vivo*, therefore, the anticipated amyloid structures may be presented in living cells.

Conclusion: The BetaSerpentes program in combination with the experimental data can be used to gain insight into the detailed 3D structure of amyloids. In case of mutational analysis it may allow to predict structure of amyloid aggregates within living cells.

Acknowledgements: The authors acknowledge Saint-Petersburg State University for research grants, 15.61.2218.2013 and 1.37.291.2015, Russian Foundation of Basic Research for a research grant 17-54-150002.

ANEUPLOIDY CAN UNDERLIE A REVERSIBLE PHENOTYPIC SWITCH, OR WHAT TO BE AWARE OF IF STUDYING UNUSUAL TRAITS (IN *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*)

P.B. Drozdova*, G.A. Zhouravleva

St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

*e-mail: p.drozdova@spbu.ru, drozdovapb@gmail.com

Key words: yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, translation, yeast prions

Motivation and Aim: The Sup35 and Sup45 proteins execute translation termination in *S. cerevisiae*. Some *sup35* and *sup45* mutants possess nonsense suppressor phenotype. However, some *sup35* mutants could undergo a reversible phenotypic switch towards non-suppressor phenotype. This phenotype was termed Isp⁺ for inversion of nonsense suppression. A prion-like mechanism was suggested, but the details were unclear.

Methods and Algorithms: The work was done in the 25-25-2V-P3982 strain. Standard yeast media and manipulations, methods of plasmid manipulation, gene expression microarrays, genome sequencing and comparative genome hybridization were used.

Results: Comparison of expression levels in Isp⁺ and Isp⁻ cells showed that these types of clones differ in relative activity of genes located on chromosomes II and IX, and whole genome sequencing confirmed this result. We reproduced the phenotypic switching event by obtaining multiple Isp⁺ clones originating from the Isp⁻ one and *vice versa*, and explored their karyotypes as well. We observed copy number variation in the chromosomes II, IX, and XIV, but only chromosome II copy number had an absolute correlation with the phenotype. Finally, we confirmed that additional copies of some chromosome II genes, particularly *HIS7* (the *his7-1* nonsense-mutated allele), *TEF2* and some tRNA genes, in an Isp⁺ clone can partially reproduce the Isp⁻ phenotype.

Conclusion: We showed that the Isp⁻ phenotype was associated with chromosome II disomy. These data explain most of the previous results and provide an additional complexity level, which requires additional attention when studying complex traits like nonsense suppression.

Availability: Raw sequence and microarray data are available online (details in [1–3]). The yeast strain is available upon request from the authors.

Acknowledgements: The authors acknowledge SPbU for the grant no. 1.37.291.2015, RFBR for the grant no. 16-04-00202, Presidential Grant Council for the grant NSh-9513.2016.4 and the research resource center “Molecular and cell technologies” of SPbU.

References

1. Drozdova P. et al. (2014) Transcriptional response to the [ISP⁺] prion of *Saccharomyces cerevisiae* differs from that induced by the deletion of its structural gene, *SFPI*. *FEMS Yeast Res.* 14:1160-1170.
2. Drozdova P. et al. (2016) Genome sequencing and comparative analysis of *Saccharomyces cerevisiae* strains of the Peterhof genetic collection. *PLoS ONE.* 12:13-16.
3. Drozdova P., Mironova L., Zhouravleva G. (2016) Haploid yeast cells undergo a reversible phenotypic switch associated with chromosome II copy number. *BMC Genetics.* 17(3):183-191.

A POINT DELETION SHORTLY DOWNSTREAM OF *EGFP* REPORTER 3' UTR INCREASES LEVEL OF THE REPORTER EXPRESSION IN MOUSE AND HUMAN CELLS

A.V. Ivankin*, L.V. Boldyreva, L.A. Yarinich, E.N. Kozhevnikova, M.O. Lebedev, L.I. Lebedeva, A.V. Pindyurin

Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, Russia

*e-mail: anton.ivankin@gmail.com

Key words: termination of transcription, termination defects, gene expression, 3'-RACE

Motivation and Aim: The process of transcription termination appears to be complex and provides one of the levels of gene regulation [1]. We explored the influence of transcription termination defect on protein-coding mRNA synthesis efficiency in transiently transfected mammalian and *Drosophila* cells.

Methods and Algorithms: We generated “wild type” and mutant plasmids encoding mCherry (inner reference) and eGFP (reporter) fluorescent proteins. In the mutant constructs, a point deletion was introduced shortly (32 nt) downstream of the AAUAAA polyadenylation signal (PAS) of the eGFP reporter. Using qPCR and FACS analyses, we measured the *eGFP* mRNA and protein levels relatively to *mCherry* expression in transiently transfected human HEK293T, mouse C57BL/3T3-LCD, and *Drosophila* Kc167 cultured cells. The C57BL/3T3-LCD cell line was obtained by immortalization of primary mouse embryonic fibroblasts isolated from C57BL/6J embryos according to [2]. 3'-RACE method [3] was used to identify the 3' end(s) of the mature *eGFP* mRNA molecules in HEK293T cells.

Results: We found that the one-nucleotide deletion located shortly downstream of the PAS causes up to 4-fold increase in both mRNA and protein production in transiently transfected human and mouse, but not in *Drosophila* cells. In addition, this deletion leads to twice more frequent cleavage of transcripts within 14 nt downstream of the PAS (85 % of cases), whereas the wild-type transcripts are typically cleaved more distally: at 31 nt downstream of the PAS and a number of other sites.

Conclusion: The small change in the region immediately downstream of 3' UTR, which is present only in DNA template but not in the mature mRNA molecules, can substantially affect the expression level of the upstream gene. The results indicate the great regulatory potential of the 3' downstream region, which also may be applied in biotechnology.

Acknowledgements: We thank S.E. Kulemzin and E.S. Reshetnikova from the Laboratory of immunogenetics of IMCB SB RAS for help in FACS data acquiring. This work was supported by the Russian Science Foundation (grant no. 16-14-10288).

References

1. Proudfoot N.J. (2016) Transcriptional termination in mammals: Stopping the RNA polymerase II juggernaut. *Science*. 352(6291):aad9926.
2. Xu J. (2005) Preparation, culture, and immortalization of mouse embryonic fibroblasts. *Curr. Protoc. Mol. Biol.* Ch. 28: Unit 28.1.
3. Scotto-Lavino E. et al. (2006) 3' end cDNA amplification using classic RACE. *Nat. Protoc.* 1(6):2742-2745.

RNA-TEMPLATED DNA DOUBLE-STRAND BREAK REPAIR: ROLE OF RAD52

O.M. Mazina¹, H. Keskin², K. Hanamshet¹, F. Storici², A.V. Mazin^{1*}

¹ Department of Biochemistry and Molecular Biology, Drexel University College of Medicine, Philadelphia, PA 19102, USA

² School of Biological Sciences, Georgia Institute of Technology, Atlanta, GA 30332, USA

*e-mail: amazin@drexelmed.edu

Key words: DNA repair, RNA, RAD52, homologous recombination, inverse strand exchange, DNA double strand break repair

Recent data show that RNA can serve as a template for DNA double-strand break repair in yeast cells. Rad52, a member of the homologous recombination pathway, emerged as an important player in this process. However, the exact mechanism of how Rad52 contributes to RNA-dependent DSB repair remained unknown. Here, we report a novel activity of yeast and human Rad52: inverse strand exchange, in which Rad52 forms a complex with dsDNA and promotes strand exchange with homologous ssRNA or ssDNA. We show that in eukaryotes, inverse strand exchange between homologous dsDNA and RNA is a unique activity of Rad52; neither Rad51 recombinase, nor the yeast Rad52 paralog Rad59 has this activity. In accord with our *in vitro* results, our experiments in budding yeast provide evidence that Rad52-inverse strand exchange plays an important role in RNA-templated DSB repair *in vivo*.

CONDITIONAL PRIONS IN YEAST *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

A.A. Nizhnikov^{1, 2*}, K.S. Antonets^{1, 2}

¹ St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

² All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, St. Petersburg, Pushkin, Russia

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

Key words: amyloid, prion, *Ure2*, *Gln3*, yeast, *Saccharomyces cerevisiae*

Motivation and Aims: Prions represent proteins capable of existing in the same conditions in two or more structurally different conformations, at least one of which exhibits infectious properties. To date, about ten prions have been identified in *S. cerevisiae*. Yeast proteome has a number of proteins with bioinformatically predicted prion-forming domains. One of such proteins is nitrogen catabolism regulator *Gln3*, which has QN-rich domain exhibiting some of prion properties when overproduced. This study is focused on the analysis of prion properties of the full-length *Gln3*.

Methods: Standard yeast genetics techniques were used in this study. Protein transformation was used to demonstrate cytoplasmic infectivity of *Gln3* aggregates. Interaction between CFP- and YFP-fused proteins was analyzed by confocal microscopy.

Results: We demonstrated that overproduced full-length *Gln3* may stably exist in two different conformational states: monomeric and aggregated. Aggregated state of *Gln3* fused to YFP can be induced by its co-overproduction with *Gln3* QN-rich region or *Ure2* protein fused to CFP fluorescent tag. Aggregated state of *Gln3* is stably inherited during mitosis and meiosis, partially curable by an antiprion agent guanidine hydrochloride, possesses cytoplasmic infectivity; and can be re-induced *de novo* by co-overproduction with QN-rich fragment in the presence of [*PIN*⁺] prion. Thus, *Gln3* when overproduced satisfies all the criteria of yeast prion.

Conclusion: *Gln3* represents an example of protein that has prion properties only being overproduced. We propose term “conditional prion” for such proteins. Since proteome is very dynamic system and the levels of production of the most of proteins are inconstant and may drastically change, conditional prions might play important roles in the response to different stresses, changes of environmental conditions or during transition of the cell cycle.

Acknowledgements: This work was supported by the grants of the President of the Russian Federation (MK-3240.2017.4) and Russian Foundation for Basic Research (16-34-60153 and 17-04-00816). The authors acknowledge Research Park of SPbSU for the opportunity to use equipment of “RRCMCT” and “Chromas”.

ANALYSIS OF CHICKEN CHROMATIN STRUCTURE USING HI-C DATA

M.A. Nuriddinov^{1*}, V.S. Fishman^{1,2}, N.R. Battulin^{1,2}, A.V. Maslova³, O.L. Serov^{1,2}, A.V. Krasikova³

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

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³ St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

*e-mail: nuriddinov@bionet.nsc.ru

Key words: *Hi-C, chromatin, spatial organization, domain structure, avian, chicken*

Motivation and Aim: Using the last decade developed techniques such as the Hi-C method allow to discover the new layer of spatial chromatin organization being formed by the closely interacting chromosomal regions, in other words, topologically associated domains (TADs). The TAD architecture is shown to play important roles in gene regulation, transcription and replication, to correlate with epigenetic marks. This ideas are supported by investigation of the mammalian genome to reveal high conservation of chromosomal domain structure across both cell types within one organism and evolution lineages.

In contrast to mammals, TADs had not been described yet in other vertebrate subgroups including birds to be the most diverse group of terrestrial warm-blooded animals. To bridge the gap, we profiled the chicken chromosome topology and examined it to determine whether the patterns obtained from mammal genome are present in the avian genome. This could give fresh insights to molecular mechanisms to form chromosomal domain architecture.

Methods and Algorithms: To study chromatin structure in avian somatic cells, we determined genome-wide chromatin interaction frequencies, having perform the Hi-C experiment in chicken embryonic fibroblasts (CEF) and chicken mature erythrocytes (CME). Hi-C data were processed to identify corresponding domain sets, using the standard algorithm.

To test a distribution of genome elements, such as epigenetic marks, functional sites, genes and others, we used available location data on those. To evolutionary analyze, we compared mouse, human and chicken domain structure profiles through the consideration of the ortholog disposition in the syntenic regions.

Results: In contrast to the mammalian, domain structure was not conserved between examined chicken tissue, namely CEF and CME. Moreover, similarly to mammals, CEF genome elements were distributed in agreement with the domain topology. These patterns were not observed within CME data. The evolutionary analysis showed the high degree of chicken, mouse and human domain structure similarity.

Conclusion: Ours results suggest that there are common mechanisms, forming chromosomal domain structure across the avian and mammal lineages. However, the chromatin architecture of the avian mature erythrocytes is likely to be defined by yet unknown mechanisms.

SLBO-GAL4 DRIVER IN THE LINE #6458: A CAUTIONARY NOTE ON ITS USE FOR STUDYING *DROSOPHILA* OOGENESIS

A.A. Ogienko^{1,2*}, L.A. Yarinich², E.V. Fedorova¹, M.O. Lebedev², A.V. Pindyurin^{1,2}, E.M. Baricheva¹

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

² Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, Russia

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

Key words: *Drosophila melanogaster*, oogenesis, border cells, *slbo-Gal4* driver

Motivation and Aim: Border cell (BC) cluster is a group of cells that delaminate from follicular epithelium covering the egg chamber and migrate inward between nurse cells toward the oocyte, where they subsequently form a pore in the developing eggshell. The migration occurs from the beginning of stage 9 till stage 10 of egg chamber development. Importantly, BC migration is an *in vivo* model for tumor metastasis [1]. The *slbo-Gal4* transposon with the 2.6-kb fragment of the *slbo* gene enhancer (a key regulator of initiation of BC migration) driving the expression of Gal4 was previously constructed to study biology of BCs [2]. The *slbo-Gal4* driver line is a very convenient tool and has been extensively used by many laboratories to over-express genes of interest directly in the BCs or to mark these cells with a fluorescent protein expressed under the control of the UAS promoter. In Bloomington *Drosophila* Stock Center there is a fly line #6458, which carries the combination of *slbo-Gal4* and UAS-GFP transgenes. Here, we have performed a detailed characterization of the transgenic nature of this *Drosophila* stock.

Results: We found that the line #6458 carries twice more *P*-element-based transgenes than was previously expected. In addition, the insertion of the *slbo-Gal4* driver transgene resulted in a new homozygous lethal allele of the *chickadee* gene, which product is known to be involved in BC migration. Thus, results on BC migration obtained with the line #6458 should be treated with caution. To avoid such difficulty, we generated and functionally characterized several new fly lines with the *slbo-Gal4* transgene inserted in chromosomal loci seem to be not involved in the cell movement. Finally, we found a pronounced difference in BC migration in *twinfilin* mutants using the *slbo-Gal4* and UAS-GFP transgenes from the line #6458 and new lines obtained in this study for tracking of BCs.

Conclusion: Since the product of the *chickadee* gene is involved in the process of BC migration, we generated several new lines carrying the *slbo-Gal4* transgene outside of this gene. All new drivers are homozygous viable and do not affect the process of BC migration. The presence of several independent driver lines will give greater facilities for carrying genetic experiments and for their confirmation.

Acknowledgements: This work was supported by the RFBR (grant no. 16-04-01018); the work of LAY, MOL and AVP at IMCB SB RAS was supported by the RSF (grant no. 16-14-10288).

References

1. Montell D. (2003) Border-cell migration: the race is on. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 4(1):13-24.
2. Rorth P. (1998) Gal4 in the *Drosophila* female germline. *Mech. Dev.* 78(1-2):113-118.

TARGETED AND PANORAMIC VIEWS ON THE HUMAN CHROMOSOME 18 TRANSCRIPTOME AND PROTEOME

E.A. Ponomarenko*, E.V. Ilgisonis, E.V. Poverennaya, A.T. Kopylov, V.G. Zgoda, S.P. Radko, Ya.Yu. Kiseleva, A.V. Lisitsa, A.I. Archakov

Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russia

*e-mail: 2463731@gmail.com

Key words: C-HPP, human proteome, meta-analysis, mRNA, Chromosome 18

Motivation and Aim: A number of recent studies show that correlation between transcript and protein levels within same sample doesn't exist or is very poor. Absence of protein can be caused by biological factors – protein is not expressed in the given condition or in this type of biomaterial. Due to sensitivity limitations of proteomic methods [1] and an absence of a protein amplification method, the methodological characteristics and the noise from the biological matrix can also cause experimental errors. We use transcriptomic data as a standard when evaluating of the results of proteomic experiments, since the presence of mRNA indicates the presence of gene expression and, therefore, potential possibility of detecting the corresponding protein in the sample.

Methods and Algorithms: Within the International Human Proteome Project we studied the transcriptome and the proteome encoded by genes of chromosome 18 [2]. Cells of the liver tissue of a healthy person and HepG2 cell lines were analyzed. We used panoramic analysis methods – RNA sequencing and shotgun LC-MS/MS, along with the directional measurements for quantitative analysis. Information about the transcripts copy number per cell was obtained by qRT-PCR method, while the copy number of protein (corresponding to given transcripts) was obtained by targeted mass-spectrometry (SRM) with use of isotope-labeled peptides as standards.

Results: The study defined the parameters of bioinformatics analysis of transcriptomic and proteomic data (RPKM cutoff level, fragmentation level, data merging or crossing, the number of transitions, etc.) under which the list of detected proteins most closely matches the transcripts found in the same sample. Sensitivity, specificity and accuracy of various methods of proteomic analysis were calculated applicable to the transcriptome of the same sample, by analogy with the evaluation of diagnostic methods.

Conclusion: Integration of targeted transcriptomic analysis and data obtained by SRM method from the same sample appears to be the most promising solution for detecting so-called “missing” proteins.

Acknowledgements: The study was supported by Russian Scientific Foundation, grant #14-25-00132. We acknowledge the IBMC “Human Proteome” Core Facility for assistance with the generation of mass-spectrometry data.

References

1. Archakov A.I. et al. (2012). Chromosome-centric approach to overcoming bottlenecks in the human proteome project. *Expert Rev. Proteomics*. 9(6):667-676.
2. Poverennaya E.V. et al. (2016) State of the art on Chromosome 18-centric HPP in 2016: Transcriptome and proteome profiling of liver tissue and HepG2 Cells. *J. Proteome Res.* 15(11):4030-4038.

Xist* GENE AND CHROMATIN MODIFICATIONS DURING IMPRINTED X CHROMOSOME INACTIVATION IN VOLE *M. LEVIS

A.I. Shevchenko*, E.V. Grigor'eva, I.S. Zakharova, S.M. Zakian

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

*e-mail: epigene@bionet.nsc.ru

Key words: *X chromosome inactivation, chromatin modification, Xist gene, vole*

In vole *M. levis* cells from pre-implantation embryo and extraembryonic tissues undergo imprinted X chromosome inactivation (iXCI) in which lncRNA *Xist* participates. At the early stage of iXCI the chromatin of vole inactive X chromosome demonstrates enrichment in heterochromatin-specific protein HP1 and trimethylation of H3K9 H4K20 attributable for regions of constitutive heterochromatin. In the study, using vole trophoblast (TS) stem cells as a model of iXCI, we went to further investigated the inactive X chromosome chromatin composition in *M. levis* and tried to find out the role of *Xist* RNA. We found that the unique chromatin of the inactive X chromosome in vole TS cells include also histone methyltransferase SETDB1 and the protein KAP1. In addition, we found that *Xist* RNA does not make a significant contribution to the maintenance of inactive X-chromosome state during iXCI in vole TS cells. *Xist* repression does not affect both transcriptional silencing caused by iXCI and maintenance on the inactive X chromosome of histone modifications H3K9me3 and H4K20me3, as well as the proteins HP1, KAP1 and SETDB1. Moreover, the chromatin composition of the inactive X chromosome disrupted by DZNep in TS cells could be restored in absence of *Xist* RNA. However, during vole TS cells differentiation, the *Xist* transcript is still necessary for recruitment to the inactive X chromosome an additional repressive histone modification, namely trimethylated H3K27.

Acknowledgements: The work was funded by the Russian Academy of Sciences program II.2P/VI.60-1 and the RFBR grant No. 15-04-03947a.

PARASITES OF NOSEMA, CRITHIDIA AND APICYSTIS GENERA IN THE NATURAL SIBERIAN BUMBLEBEE POPULATIONS

V. Vavilova^{1*}, I. Konopatskaia^{1,2}, N. Ereemeeva³, A. Blinov¹

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

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³ Biological Faculty, Kemerovo State University, Kemerovo, Russia

*e-mail: valeriya-vavilova@bionet.nsc.ru

Key words: *bumblebees, parasite, Nosema, Crithidia, Apicystis, ribosomal gene cluster*

Motivation and Aim: It was found, that the number of bumblebee populations decreases rapidly around the world. A variety of different virus, bacteria, fungi, protozoa and animal pathogens among other stress factors play a key role in bumblebee colonies loss. Fungal parasites of the genus *Nosema* (Microsporidia: Nosematidae) and protozoan parasites of the genera *Crithidia* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) and *Apicystis* (Apicomplexa: Ophryocystidae) have a significant negative impact on bumblebee populations. The presence of new species and genetic variants of *Nosema*, *Crithidia* and *Apicystis* parasites were established by using different nuclear DNA markers. Thereby, investigation of *Nosema*, *Crithidia* and *Apicystis* species in bumblebee populations from previously unstudied Novosibirsk and Irkutsk regions allows to identify novel genetic variants and species of the parasites.

Methods and Algorithms: We have analyzed distribution and genetic diversity of protozoan and fungal parasites in the bumblebee populations using both molecular biological and bioinformatical methods.

Results: The bumblebee specimens were collected in different locations: in Novosibirsk region (Tanay Lake) and Irkutsk region (Listvyanka and Kosaya Step villages). Total DNA were extracted from 352 bumblebee samples. PCR with primers specific for the ribosomal RNA gene cluster of *Nosema*, *Crithidia* and *Apicystis* was conducted for all analyzed bumblebee specimens. In total, 12 out of 352 bumblebee specimens were infected with *Nosema* spp. and 19 specimens with *Apicystis* spp., while 137 specimens were infected with *Crithidia* spp. Comparative analysis of ribosomal RNA genes showed that investigated samples were infected by *Nosema bombi* (*N. bombi* WS1 and WS4 genetic variants), *Apicystis bombi* (*A. bombi* and *A. bombi* Sib genetic variants) two *Crithidia* species (*C. bombi* and *C. expoeki*). For the first time genetic variant *A. bombi* Sib was described in the present study.

Conclusion: Thus, we investigated the distribution and genetic diversity of *Nosema*, *Crithidia* and *Apicystis* parasites in the natural populations of bumblebees from Novosibirsk and Irkutsk regions. Genetic variant *A. bombi* Sib was first described in the natural populations of bumblebees.

Availability: The nucleotide sequences of *Nosema bombi*, *Crithidia* spp. and *Apicystis* spp. rRNA genes were deposited to GenBank.

Acknowledgments: The work was supported by fundamental scientific research program on the project 0324-2016-0008.

GENERATION OF *DROSOPHILA* CULTURED STABLE CELL LINES USING PIGGYBAC TRANSPOSON SYSTEM

L.A. Yarinich^{1,2*}, M.O. Lebedev^{1,2}, T.D. Dubatolova¹, E.N. Andreyeva¹, A.V. Pindyurin¹

¹*Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, Russia*

²*Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia*

*e-mail: l.yarinich@mcb.nsc.ru

Key words: *inducible gene expression, piggyBac transposon, Drosophila cultured cells*

Motivation and Aim: Stable *Drosophila* cell lines are typically obtained by classical cotransfection approach, which leads to integration of transgene DNA at random chromosomal loci, but the frequency of these events is very low and associated with a number of complications. The piggyBac transposon system for chromosomal integration of transgenes accelerates stable cell line generation and eliminates most of the difficulties associated with the classical approach. The aim of this study is the adaptation of the piggyBac transposon system to cultured *Drosophila* S2 cells to provide a method for the fast generation of stable cell lines for the expression of recombinant proteins.

Results: We generated plasmid constructs encoding the piggyBac transposase and optimized the conditions for the transient activity of the transposase to decrease its toxic effects. For this purpose, the following two approaches were used: (i) the chimeric version of the piggyBac transposase (PB-L3-ERT2), whose activity is regulated by tamoxifen, and (ii) the construct encoding the transposase and the transposon as one transcriptional unit allowing to turn off the piggyBac transposase expression immediately after the transposition of the reporter construct from the plasmid into the genome. Since MTT assay revealed lower cytotoxicity of the latter approach, it was used for further development of the transgenesis system. We generated a construct, which contains the heterologous fusion protein expression cassette, along with the blasticidin S selection marker, all in a single plasmid in order to avoid generating nonproductive antibiotic-resistant cells. Thus, the generation of stably inducible cell lines using developed piggyBac system involves the use of only one plasmid. This plasmid carries the piggyBac transposase gene driven by *hsp70* gene promoter followed by the transposon containing three genes placed in a head-to-head orientation to avoid promoter interference: (i) α Tubulin at 84B fused to mCherry, (ii) the blasticidin S resistance gene, and (iii) a gene of interest fused to eGFP. After transfection into a cell, the transiently expressed piggyBac transposase mediates the insertion of the transposon(s) into the host genome. Cells with the integrated transposon(s) are selected by drug resistance to blasticidin S for two weeks. The use of the inducible *MtnA* gene promoter allows to minimize any possible toxic effects of overexpression of fluorescent fusion proteins.

Conclusion: We generated ten double fluorescent reporter stable cell lines (one control line expressing the mCherry- α Tubulin84B and eGFP and nine lines expressing the mCherry- α Tubulin84B and the eGFP fusions of Asp, Chb, Eb1, Mars, MBD-R2, Mei-38, Patronin, Rcd1, and Rcd5). Their life cell imaging showed that, for instance, the Eb1-eGFP protein is localized at the plus-ends of growing microtubules while the Asp-eGFP protein is localized at the minus ends of K fibers.

Acknowledgements: This study was supported by the grant from the Russian Science Foundation no. 16-14-10288.

NONSENSE MUTATIONS IN THE ESSENTIAL SUP35 GENE AND Sup35p PRIONIZATION

G.A. Zhouravleva^{1,2*}, N.P. Trubitsina¹, O.M. Zemlyanko^{1,2}, E.M. Maksiutenko¹, S.A. Bondarev^{1,2}

¹Department of Genetics and Biotechnology, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

²Laboratory of Amyloid Biology, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

*e-mail: zhouravleva@rambler.ru; g.zhuravleva@spbu.ru

Key words: yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, translation, yeast prions

Motivation and Aim: SUP35 is indispensable gene encoding translation termination factor eRF3 in *Saccharomyces cerevisiae*. ORF of SUP35 is enriched by CAA codons which can be converted to TAA stop codons by single nucleotide substitution. Such nonsense mutations (*sup35-n*) resulted in premature termination codon (PTC) creation should cause cell death. However *sup35-n* mutants together with short Sup35p fragment contain also full-length Sup35p which allows them to keep viability [1]. The Sup35 protein consists of three domains. The N-proximal part (Sup35N), or prion-forming domain (PFD), is not essential for viability and translation termination, but is required for [*PSI*⁺] prion induction and propagation. Overproduction of the full-length Sup35 protein as well as its PFD induces *de novo* [*PSI*⁺] formation. The presence of short Sup35p fragments in *sup35-n* mutants will possibly influence the Sup35p prionization or properties of already existing [*PSI*⁺]. Thus the main aim of this work is characterization effects of *sup35-n* mutations on [*PSI*⁺] properties.

Methods and Algorithms: Haploid and diploid yeast strains containing deletion of SUP35 gene compensated by appropriate plasmid were used for plasmid shuffle. Presence of plasmid with mutant SUP35 was verified by sequencing. Sup35p aggregates were characterized by SDD-AGE and visualized using anti-Sup35p rabbit polyclonal antibodies.

Results: It was shown that presence of short Sup35p fragments in *sup35-n* mutants influence both prionization of Sup35 as well as [*PSI*⁺] prion properties. Four different mutants were studied contained Sup35 fragments from 7 to 50 kDa. The presence of shortest Sup35p fragment, 7 kDa, in *sup35-240* leads to prion curing, while more long fragments (15, 20 and 50 kDa) are able to induce [*PSI*⁺] *de novo*.

Conclusion: Nonsense *sup35* mutations provide a unique model for study [*PSI*⁺] prion formation induced by shortened Sup35p fragments formed *in vivo*. Mutation *sup35-240* is incompatible with the [*PSI*⁺] prion both in haploid and diploid cells.

Acknowledgements: The authors acknowledge SPbU for the grant no. 1.37.291.2015, RFBR for the grant no. 16-04-00202 and the research resource center “Molecular and cell technologies” of SPbU.

References

1. Chabelskaya S., Kiktev D., Inge-Vechtomov S., Philippe M., Zhouravleva G. (2004) Nonsense mutations in the essential gene SUP35 of *Saccharomyces cerevisiae* are non-lethal. *Mol. Genet. Genomics*. 272:297-307.

Секция

**МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА.
ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА. БИОМЕДИЦИНА**

Session

**MEDICAL GENETICS. HUMAN GENETICS.
BIOMEDICINE**

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ГЕПАТОКАНЦЕРОГЕНЕЗУ У МЫШЕЙ АССОЦИИРОВАНА С ЭКСПРЕССИЕЙ МРНК ЯДЕРНЫХ РЕЦЕПТОРОВ CAR, PPAR α И ИХ ГЕНОВ-МИШЕНЕЙ

Н.В. Багинская*, Е.В. Кашина, М.Ю. Шаманина, С.И. Ильницкая, В.А. Мордвинов

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: bagin@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: ядерные рецепторы, орто-аминоазотолуол (ОАТ), мыши

Мотивация и цели: Загрязнение среды обитания канцерогенами делает актуальной задачу выяснения механизмов устойчивости к ним. Ядерные рецепторы (ЯР)-ксеносенсоры: конститутивный рецептор андростанов (Car) и рецепторы активации пролифераторов пероксисом (Ppar- α и γ) играют определяющую роль в процессах гепатоканцерогенеза. Цель данного исследования – выявление связи между активацией ЯР Car, Ppar- α и γ и чувствительностью к химическому гепатоканцерогенезу у мышей.

Методы и алгоритмы: Эксперименты проводили на самцах мышей чувствительной линии DD/He (DD) и резистентной линии CC57BR/Mv (BR). Гепатоканцероген ОАТ вводили четырехкратно раз в две недели. Контролем служили интактные мыши и животные, получавшие инъекции растворителя. Животных забивали на 1-е и 4-е сутки после введения. Экспрессию мРНК Car, Ppar α , Ppar γ и генов-мишеней Cyp2b10, Ugt1a1 и Sult1a1 в печени определяли методом количественной ПЦР относительно β -актина. Содержание белка Ppar γ определяли с помощью антител ab59256, AbCam. Уровни кортикостерона (КС), свободного тироксина (сТ4) и ФНО- α в сыворотке крови – методами ИФА.

Результаты: Уровни мРНК Car и Ugt1a1 у интактных мышей линии BR были в 4 раза, а мРНК Ppar γ почти в 8 раз выше, чем у DD. Экспрессия белка Ppar γ в ядрах клеток печени и базальный уровень КС и ФНО α в крови также были повышены у BR. В ответ на введение ОАТ у мышей обеих линий развивалась воспалительная реакция с возрастанием концентрации ФНО- α , более выраженная и длительная у мышей DD. Наряду с этим у DD было отмечено значительное снижение уровня сТ4 в крови. Через сутки после введения ОАТ наблюдался значительный рост экспрессии мРНК Cyp2b10, причем у DD он был в 5 раз выше, чем у BR. На 4-е сутки содержание мРНК Car, Sult1a1, Ugt1a1 и Cyp2b10 не отличалось от контроля, уровень мРНК Ppar α был снижен, а Ppar γ при сохранении межлинейных различий был повышен в обеих линиях.

Заключение: Резистентность мышей линии BR к ОАТ-гепатоканцерогенезу ассоциирована с высоким уровнем экспрессии мРНК и белка Ppar γ в печени и уровнем КС в крови. Высокая чувствительность у мышей DD связана с повышенной ОАТ-активацией Car, снижением уровня сТ4 и развитием хронической воспалительной реакции.

ВКЛАД ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ РЕПАРАЦИИ ДНК В ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКУЮ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ ЛИМФОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО

М.Л. Баканова^{1*}, В.И. Минина^{1,2}, А.А. Тимофеева¹, Т.А. Головина^{1,2},
Я.А. Савченко¹, А.В. Рыжкова¹, Р.А. Титов¹, М.А. Асанов¹, В.А. Титов³, И.А. Вафин⁴

¹ Институт экологии человека ФИЦ УУХ СО РАН, Кемерово, Россия

² Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

³ Областной клинический онкологический диспансер, Кемерово, Россия

⁴ Кемеровский областной центр крови, Кемерово, Россия

*e-mail: mari-bakano@ya.ru

Ключевые слова: рак легкого; гены репарации ДНК; хромосомные aberrации

Среди многообразия онкологических заболеваний пристальное внимание привлекают злокачественные новообразования легких. Система репарации ДНК является первым барьером на пути возникновения геномной нестабильности и канцерогенеза под действием мутагенов, а признанным маркером, отражающим мутагенное воздействие, является спонтанный уровень хромосомных aberrаций (ХА) в лимфоцитах крови.

Цель: Анализ полиморфных вариантов генов репарации ДНК и ХА у больных раком легкого (РЛ).

Материалы и методы: Обследованы 328 человек, больных РЛ, первично обратившихся для диагностики и лечения в Кемеровский областной онкологический диспансер, и 335 здоровых доноров Кемеровского областного центра крови, подобранных с учетом возраста, пола, этнической принадлежности и статуса курения, которые составили группу сравнения. Полиморфные варианты генов *APE1* (T444G), *hOGG1* (C977G), *XRCC1* (G839A), *XRCC1* (A1196G), *ADPRT* (T2285C), *XPD* (T2251G), *XPG* (G3310C), *XPC* (A2815C), *ATM* (G5557A), *NBS1* (C553G) изучали методом аллель-специфической ПЦР (НПФ «Литех», Москва), а *XRCC2* (G563A), *XRCC3* (C722T) – методом real-time PCR (ООО «СибДНК», Новосибирск). Культивирование лимфоцитов крови для получения препаратов хромосом осуществляли с помощью стандартного полумикрометода. Статистическая обработка материала проводилась с использованием программ: SNPstats (<http://bioinfo.iconcologia.net/SNPstats>), Statistica 10.0 (StatSoft, Inc., США).

Результаты: Распределение изученных полиморфных вариантов генов репарации показало соответствие равновесию Харди–Вайнберга всех изученных локусов как в группе больных РЛ, так и в группе сравнения. Выявлена взаимосвязь полиморфизма гена *XPD* (T2251G) с риском развития РЛ. Наиболее значимо ассоциация проявлялась в лог-аддитивной модели наследования ($OR_{adj} = 1.56$; 95 % CI = 1.16–2.10; $p_{adj} = 0.0027$). В ходе цитогенетического анализа установлено, что средняя частота метафаз с повреждениями хромосом в клетках крови у больных РЛ статистически значимо отличалась от группы сравнения (3.13 ± 2.02 % против 2.09 ± 1.76 %; $p = 0.000001$). Установлено превышение уровня ХА для обладателей генотипов G/G и T/G, по сравнению с T/T гена *XPD* в группе больных РЛ (G/G 3.37 ± 1.91 против T/T 2.68 ± 1.92 ; $OR_{adj} = 1.23$; 95 % CI = 1.03–1.44; $p_{adj} = 0.043$; T/G: 3.30 ± 2.08 против T/T 2.68 ± 1.92 ; $OR_{adj} = 1.18$; 95 % CI = 1.05–1.31; $p_{adj} = 0.014$).

Заключение: Полученные результаты указывают на возможное влияние вариантов гена *XPD* (T2251G) на риск развития злокачественных новообразований и структурную целостность хромосом у больных РЛ.

НЕВИРУСНЫЕ БЕЛКОВЫЕ ИММУНОГЕНЫ НА ОСНОВЕ FN3 ДОМЕНА В КАЧЕСТВЕ ИНДУКТОРОВ АНТИИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ

К.О. Баранов^{1*}, О.Ю. Волкова¹, Л.В. Мечетина^{1,2}, А.А. Горчаков^{1,2},
Д.С. Черникова^{1,2}, С.В. Гусельников^{1,2}, А.М. Наякшин¹, А.В. Таранин^{1,2}

¹ Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*e-mail: baranov@mcb.nsc.ru

Ключевые слова: 10FnIII, антиидиотипические антитела, нейтрализующие антитела широкого спектра действия, ВИЧ, рибосомный дисплей

Мотивация и цели: Получение иммуногенов, способных индуцировать нейтрализующие антитела широкого спектра действия при профилактической вакцинации человека, до сих пор является нерешенной задачей. Цель данного проекта – создание невирусных белковых иммуногенов для индукции ВИЧ-специфичных нейтрализующих антител широкого спектра действия. В качестве таких агентов мы предлагаем использовать идиотип-специфичные Fn3-белки – искусственные аналоги антител на основе 10FnIII-домена фибронектина 1 человека. Мы считаем, что использование подобных мультивалентных и полиспецифичных Fn3-иммуногенов способно обеспечить направленное регулирование иммунного ответа у человека.

Методы и алгоритмы: В работе использовали методы клонирования ДНК, экспрессии белков в про- и эукариотических системах, гель-фильтрации и аффинной очистки белков, иммунизации и иммуноферментного анализа. Скрининг диверсифицированной библиотеки проводили с использованием рибосомного дисплея.

Результаты: В нашей лаборатории с использованием триплетного синтеза была создана Fn3-библиотека, в которой участки, кодирующие петли BC и FG, были диверсифицированы. На ее основе получен набор из случайных Fn3-белков (мономеров, гомоолигомеров и гетеродимеров) и проведена оценка их биохимических и иммуногенных свойств. Проведен скрининг библиотеки на поиск Fn3-белков, специфически связывающих Fab-фрагмент предшественников нейтрализующих антител широкого спектра действия (клон VRC01). В настоящий момент проводится анализ отобранных кандидатных клонов.

Заключение: Показано, что моно- и олигомерные Fn3-белки могут выступать в качестве эффективных индукторов антиидиотипических антител. Их иммуногенность, а также растворимость и стабильность определяются преимущественно аминокислотным составом петель. В случае гетеродимерных Fn3-белков антиидиотипические антитела генерируются к петлям обоих Fn3-мономеров. Полученные данные позволят определить стратегию создания целевых иммуногенов для фокусировки иммунного ответа у человека.

Благодарности: Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ № 16-04-00915-а (создание невирусных иммуногенов) и 16-04-00789-а (рибосомный дисплей).

ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ ГЕНОВ, СВЯЗАННЫХ С БОЛЕЗНЬЮ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Н.Д. Беляев

*Институт клеточной и молекулярной биологии, Университет Лидса, Великобритания
e-mail: N.D.Belyaev@leeds.ac.uk*

Ключевые слова: *амилоидные бляшки, APP, AICD, неприлизин, гистон деацетилазы*

Одной из наиболее популярных гипотез возникновения болезни Альцгеймера является амилоидно-каскадная гипотеза, в соответствии с которой в основе болезни лежит формирование высокотоксичных амилоидных бляшек. Бляшки формируются в результате агрегации А-бета-пептида, который, в свою очередь, является результатом процессинга белка – предшественника А-бета, APP (Amyloid Precursor Protein). Процессинг осуществляется последовательным расщеплением APP альфа-, бета- и гамма-секретазами. Помимо А-бета-пептида, в числе прочих образуется AICD (APP-Intracellular-Cytoplasmic-Domain). Мы показали, что AICD способен транслоцироваться в ядро и выполнять функции фактора транскрипции. Показано, что AICD связывается с промоторной областью гена неприлизина. Неприлизин – один из ферментов, способных деградировать А-бета-пептид, поэтому поддержание высокого уровня неприлизина может быть использовано в качестве важного терапевтического фактора в предотвращении болезни Альцгеймера. Показано, что репрессия гена неприлизина осуществляется путем связывания гистон деацетилазы 1 (HDAC1) с промотором гена. AICD способен вытеснять HDAC1 и, таким образом, активировать ген. Следовательно, изменение структуры хроматина у промотора гена неприлизина является ключевым механизмом активации–репрессии гена.

СВОБОДНО-ЦИРКУЛИРУЮЩАЯ МИКРОРНК MIR-155-5P КАК БИОМАРКЕР РАКА ЛЕГКОГО

Р.И. Берсимбаев*, О.В. Булгакова, А.А. Кусаинова

Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан

*e-mail: ribers@mail.ru

Ключевые слова: рак легкого, микроРНК, miR-155, радон

Среди многообразия злокачественных новообразований рак легкого (РЛ) привлекает к себе самое пристальное внимание ввиду его широкой распространенности и трудностей своевременной диагностики. Установлено, что радон является второй причиной РЛ после курения. Многие регионы Казахстана в той или иной степени являются потенциально радоноопасными [1]. Анализ данных литературы последних лет позволил сделать вывод о вовлеченности различных микроРНК в регуляцию клеточных процессов, индуцированных действием радиации [2]. Кроме того, показана важная роль дифференциальной экспрессии генов микроРНК в процессах злокачественной трансформации [3].

Материалы и методы: Материалом для исследования служила микроРНК, выделенная из плазмы крови пациентов с диагнозом рак легкого и здоровых людей. Детекцию уровня экспрессии miR-155 проводили методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. Для количественной оценки уровня экспрессии микроРНК использовали метод относительных определений количественных значений $2^{-\Delta\Delta CT}$. Статистический анализ проводили с помощью программы GraphPad Prism 6.

Результаты: В исследование были включены 136 человек, которых разделили на три группы: пациенты с диагнозом рак легкого, проживающие на территории с повышенным уровнем радона (49 чел.); пациенты с диагнозом рак легкого, не подвергавшиеся высоким дозам радона (37 чел.); и контрольная группа, состоящая из здоровых волонтеров (50 чел.). Исходя из полученных данных, в группе пациентов «Рак легкого без радона» уровень miR-155 был в 2 раза выше по сравнению с контрольной группой здоровых лиц ($p < 0.01$). Не было выявлено отличий в уровне экспрессии miR-155 в группах «Рак легкого + радон» и контроль. Наблюдалось двукратное увеличение экспрессии miR-155 у пациентов, которые не подвергались воздействию радона по сравнению с лицами, проживающими на территории с высокой концентрацией радона в воздухе.

Заключение: Очевидно, что потенциал использования микроРНК, циркулирующих в плазме/сыворотке крови, в качестве онкомаркеров очень высок [3]. В литературе отсутствует информация о повышении или снижении экспрессии miR-155 при облучении радоном. Исходя из полученных нами данных, можно заключить, что микроРНК miR-155 является онкомиром и принимает участие в патогенезе злокачественных опухолей легкого, но не вовлечена в патогенез радон-индуцированного рака легкого.

Список литературы

1. Bersimbaev R.I., Bulgakova O. (2015) The health effects of radon and uranium on the population of Kazakhstan. *Genes Environ.* 37:18. DOI 10.1186/s41021-015-0019-3.
2. Cui F.M., Li J.X., Chen Q., Du H.B., Zhang S.Y., Nie J.H., Cao J.P., Zhou P.K., Hei T.K., Tong J. (2013) Radon-induced alterations in micro-RNA expression profiles in transformed BEAS2B cells. *J. Toxicol. Environ. Health A.* 76(2):107-119.
3. Izzotti A., Carozzo S., Pulliero A., Zhabayeva D., Ravetti J.L., Bersimbaev R. (2016) Extracellular MicroRNA in liquid biopsy: applicability in cancer diagnosis and prevention. *Amer. J. Cancer Res.* 6(7):1461-1493.

КОМБИНИРОВАННЫЕ ЭФФЕКТЫ ПОЛИМОРФИЗМА ГЛУТАТИОН-S-ТРАНСФЕРАЗЫ M1 И T1 НА РИСК РАЗВИТИЯ РАКА ЛЕГКОГО В КАЗАХСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

О.В. Булгакова*, А.А. Кусаинова, Р.И. Берсимбаев

Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева, Астана, Казахстан

*e-mail: ya.summer13@yandex.kz

Ключевые слова: рак легкого, GSTT1, GSTM1, полиморфизм

Онкологические заболевания по своей природе являются мультифакториальными. Исследования последних лет показали, что некоторые изменения функций системы биотрансформации ксенобиотиков приводят к повышенной восприимчивости организма к вредным воздействиям окружающей среды и, как следствие, к увеличению риска онкологических заболеваний, в том числе и рака легкого [1]. Однако литературные данные по полиморфизму генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков при раке легкого противоречивы в связи с популяционными особенностями. Целью данной работы было оценить вклад сочетаний полиморфных вариантов этих генов в предрасположенность к раку легкого в казахской популяции. *Материалы и методы:* В исследование были включены 70 больных с диагнозом рак легкого. Типирование образцов по генам GSTT1 и GSTM1 проводили путем мультиплексной полимеразной цепной реакции. Статистический анализ результатов выполняли с использованием программы GraphPad Prism 6.

Результаты: Результаты исследования показывают, что среди больных РЛ было выявлено статистически значимое повышение частоты гомозигот по нулевому аллелю генов GSTT1 и GSTM1 по сравнению со здоровыми лицами ($p < 0.001$). Было показано увеличение частоты нулевых генотипов GSTT1 и GSTM1 как для больных с плоскоклеточным раком легкого (56 и 48 % соответственно), так и для пациентов с мелкоклеточной формой опухоли (74 и 67 % соответственно) по сравнению с контрольными значениями (15 и 34 % соответственно). Процентное содержание нулевых генотипов гена GSTT1 и GSTM1 у больных с наличием очагов метастазирования составило 59 и 68 % соответственно.

Заключение: Различия в эффекте этих двух генетических полиморфизмов на риск развития определенного гистологического типа опухоли могут быть объяснены разным вкладом канцерогенных веществ, которые метаболизируются ферментами, кодируемыми полиморфными генами. Можно предположить большее или меньшее проникновение и накопление канцерогенов в эпителиальных клетках бронхов, из которых развивается преимущественно эпителиальный плоскоклеточный рак легкого, либо в стромальных элементах, мутационная трансформация которых дает начало мелкоклеточному раку легкого. При нулевых генотипах генов GSTT1 и GSTM1 происходит замедление скорости детоксикации ксенобиотиков, что в свою очередь приводит к накоплению в организме активных промежуточных метаболитов, обладающих мутагенными и канцерогенными свойствами, которые могут не только провоцировать возникновение злокачественной опухоли, но и способствовать дальнейшему метастазированию опухоли.

Список литературы

1. Gao Y., Gao F., Hu T., Li G., Sui Y. (2017) Combined effects of glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms on risk of lung cancer: evidence from a meta-analysis. *Oncotarget*. 8(17):28135-28143.

РОЛЬ МУТАЦИЙ В ГЕНЕ *FLG* В РАЗВИТИИ АЛЛЕРГОДЕРМАТОЗОВ

Г.Ф. Гималова^{1*}, А.С. Карунас^{1,2}, Э.Р. Гуменная³, Э.Ф. Хантимерова⁴,
Ш.З. Загидуллин⁴, Э.К. Хуснутдинова^{1,2}

¹ Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, Уфа, Россия

² Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

³ Республиканский кожно-венерологический диспансер, Уфа, Россия

⁴ Башкирский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Уфа, Россия

*e-mail: galiyagimalova@gmail.com

Ключевые слова: аллергодерматозы, атопический дерматит, крапивница, мутации, филаггрин

Актуальность и цель: Атопический дерматит (АД) и крапивница являются одними из самых распространенных аллергодерматозов, которые встречаются у людей разных возрастов. Значительная роль в развитии данных заболеваний отводится нарушениям кожного барьера. Обнаружено, что мутации в гене филаггрина (*FLG*), основного компонента рогового слоя кожи, являются мощным фактором, предрасполагающим к развитию АД и других аллергических заболеваний (АЗ). Целью данной работы был анализ частоты мутаций *c.2282del4* и *p.Arg501** в гене *FLG* у больных аллергодерматозами и индивидов контрольной группы из Республики Башкортостан.

Материалы и методы: Группа больных включала 406 пациентов с аллергодерматозами, в том числе 303 больных АД и 103 больных крапивницей. Контрольную группу составил 261 индивид без признаков атопических заболеваний. Генотипирование мутаций проводилось методом ПЦР-ПДРФ.

Результаты: Делеция *c.2282del4* в гене *FLG* встречалась у 38 больных АД в гетерозиготном состоянии и у трех – в гомозиготном. Из них 34 имели АД средней тяжести, 7 – тяжелый. Кроме того, 19 носителей мутации имели АД и сопутствующие АЗ, а 22 – только АД. В контроле выявлены 3 гетерозиготных носителя мутации. Аллельная частота делеции *c.2282del4* составила 7.26 % у больных и 0.57 % в контроле ($p = 1 \cdot 10^{-6}$). Вторая наиболее распространенная в европейских популяциях мутация в данном гене *p.Arg501** в наших выборках встречалась редко. Она обнаружена лишь у 5 больных в гетерозиготном состоянии; все они имели АД средней тяжести и сопутствующие АЗ. В контроле данная мутация также выявлена у 5 индивидов. Аллельная частота мутации *p.Arg501** составила 0.85 % у больных АД и 0.96 % в контроле ($p > 0.05$).

В группе больных крапивницей выявлено два индивида с делецией *c.2282del4* (1.9 %). Один из них имел острую форму заболевания, другой – хроническую. Аллельная частота делеции составила 0.96 % у больных и 0.57 % в контроле. Три пациента с крапивницей были гетерозиготны по мутации *p.Arg501** (2.9 %). Из них двое имели острую крапивницу, а один – хроническую. Аллельная частота данной мутации составила 1.4 % у больных и 0.96 % в контрольной группе ($p > 0.05$).

Заключение: Таким образом, в результате проведенного исследования нами выявлена ассоциация делеции *c.2282del4* в гене *FLG* с развитием атопического дерматита.

ПОИСК ПОЛИМОРФИЗМОВ, ПОТЕНЦИАЛЬНО АССОЦИИРОВАННЫХ С ДИСФУНКЦИЕЙ МИТОХОНДРИЙ У ПРЕЖДЕВРЕМЕННО СТАРЕЮЩИХ КРЫС OXYS

В.А. Девяткин*, Н.А. Муралёва, Н.Г. Колосова
ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия
*e-mail: devyatkin@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: митохондрии, старение, OXYS, Wistar, SNP

Мотивация и цели: Механизмы, лежащие в основе старения, тесно связаны с митохондриальной дисфункцией и окислительным стрессом – нарушением баланса в системах генерации и детоксикации активных форм кислорода. Показано, что преждевременное старение мозга с признаками болезни Альцгеймера, развитие ретинопатии и кардиомиопатии у крыс OXYS происходит на фоне нарастающей с возрастом митохондриальной дисфункции, которая рассматривается как наиболее вероятная причина преждевременного старения этих животных, однако механизм развития этих изменений остается не ясным. Цель работы – оценить связь развития комплекса признаков преждевременного старения у крыс OXYS с наличием несинонимичных одонуклеотидных замен (SNP) в генах митохондриальных ферментов, структурных и регуляторных белков митохондрий и изменением их экспрессии в сетчатке, префронтальной коре и миокарде.

Методы: Поиск генов, ассоциированных с митохондриями, проводили на основе результатов анализа данных литературы, баз Gene Ontology и HUGO Gene Nomenclature Committee. Поиск несинонимичных SNP в геноме крыс OXYS проводили с использованием программы Variant Effect Predictor и алгоритма SIFT. Для определения экспрессии генов в миокарде использовали метод qRT-PCR.

Результаты: Анализ данных RNA-Seq (платформа Illumina Genome Analyzer IIx) сетчатки и префронтальной коры выявил в геноме крыс OXYS, в сравнении с контрольными крысами Wistar, 2440 одонуклеотидных замен в генах, ассоциированных с митохондриями. 11 из них: в генах *LOC100362814*, *Ndufaf6*, *Decr1*, *Fbxl4*, *Adamts7*, *Ackr4*, *ErbB4*, *Tmem199*, *Ptcd1*, *Noa1*, *Slc25a32* – потенциально могут влиять на функциональность белкового продукта. Методом ПЦР в режиме реального времени в миокарде для четырех генов выявлены межлинейные различия экспрессии: у крыс OXYS повышена экспрессия генов *Tmem199* (в 20 дней и 4 мес.), *Slc25a32* (с 4 до 20 мес.) и *Decr1* (4 мес.); экспрессия *Decr1* и *Fbxl4* – снижена в возрасте 20 дней. В префронтальной коре повышена экспрессия гена *Slc25a32* у крыс OXYS во всех возрастных группах (20 дней, 5 и 18 мес.), в сетчатке – в возрасте 3 мес. Уровень мРНК гена *Adamts7* повышен относительно контроля в сетчатке крыс OXYS в возрасте 18 мес. У крыс OXYS и Wistar во всех исследованных тканях с возрастом экспрессия гена *Fbxl4* повышается, а гена *Adamts7* – понижается.

Заключение: Экспрессия гена *Slc25a32* повышена у крыс OXYS во всех исследованных тканях, что позволяет рассматривать его в качестве потенциального гена-кандидата развития митохондриальной дисфункции.

ЭФФЕКТ ОСНОВАТЕЛЯ В РАСПРОСТРАНЕННОСТИ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ГЛУХОТЫ, ОБУСЛОВЛЕННОЙ МУТАЦИЯМИ ГЕНА *GJB2*, В ПОПУЛЯЦИЯХ СИБИРИ

М.В. Зыцарь^{1,2*}, М.С. Бады-Хоо³, В.Ю. Данильченко^{1,2}, А.А. Бондарь⁴, И.В. Морозов^{2,4}, Н.А. Барашков^{5,6}, О.Л. Посух^{1,2}

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Перинатальный центр Республики Тыва, Кызыл, Россия

⁴ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

⁵ Якутский научный центр комплексных медицинских проблем, Якутск, Россия

⁶ Институт естественных наук, Северо-Восточный федеральный университет

им. М.К. Аммосова, Якутск, Россия

*e-mail: Zytzar@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: эффект основателя, наследственная глухота, ген *GJB2*, популяции Сибири

Мотивация и цель: Спектр и частота мутаций гена *GJB2* (Cx26, 13q11-q12), наиболее значимого в этиологии наследственной потери слуха, характеризуются этнической и географической специфичностью. Выявление и оценка частоты мажорных *GJB2*-мутаций в различных популяциях важны как для медико-генетических исследований, так и для понимания эволюционной истории этих популяций. Исследования, проведенные в Туве и на Алтае, показали, что у коренного населения этих регионов (тувинцев и алтайцев) с высокой частотой обнаруживаются три рецессивные мутации гена *GJB2* – p.W172C, IVS1+1G>A и c.235delC, что позволило предположить ведущую роль эффекта основателя в их распространенности на территории Южной Сибири. Целью работы является изучение генетического контекста участка хромосомы 13, включающего ген *GJB2*, реконструкция гаплотипов, специфичных для p.W172C, IVS1+1G>A и c.235delC, и оценка возраста и регионов возникновения этих мутаций.

Методы: Генотипирование 9 внутргенных и фланкирующих SNP-маркёров и 7 STR-маркёров, фланкирующих ген *GJB2* (~3.5 Mb). Реконструкция гаплотипов проведена с помощью пакета программ Arlequin (алгоритм EM).

Результаты: На основе данных о разнообразии аллелей STR- и SNP-маркёров в выборках индивидуумов, гомозиготных по каждой из *GJB2*-мутаций (p.W172C, IVS1+1G>A, c.235delC), и выборках представителей коренного населения Тувы и Алтая без этих мутаций реконструированы специфические гаплотипы-«основатели», включающие p.W172C, IVS1+1G>A и c.235delC соответственно. Получены грубые оценки возраста мутаций (~1000–700 лет для p.W172C и ~4800–2200 лет для IVS1+1G>A). Совокупность полученных данных позволяет предположить, что регионом возникновения мутации p.W172C является территория современной Тувы.

Заключение: Выявление гаплотипов, специфичных для каждой из *GJB2*-мутаций (p.W172C, IVS1+1G>A и c.235delC), свидетельствует о существенной роли эффекта основателя в их широкой распространенности у коренного населения Тувы и Алтая.

Благодарности: Работа поддержана грантом РФФИ № 15-04-04860-а.

ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИИ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ *PARVB*, *PDCD6IP*, *CAMK2B*, *HDAC9*, *GACAT3* С ВНЕЗАПНОЙ СЕРДЕЧНОЙ СМЕРТЬЮ

А.А. Иванова^{1*}, В.Н. Максимов^{1,2}, С.К. Малютин^{1,2}, С.В. Савченко^{2,3},
В.П. Новоселов^{2,3}, М.И. Воевода¹

¹ НИИ терапии и профилактической медицины – филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения РФ, Новосибирск, Россия

³ Новосибирское областное клиническое бюро судебно-медицинской экспертизы, Новосибирск, Россия

*e-mail: ivanova_a_a@mail.ru

Ключевые слова: внезапная сердечная смерть, *PARVB*, *PDCD6IP*, *CAMK2B*, *HDAC9*, *GACAT3*, GWAS

Мотивация и цели: Проверка ассоциации с внезапной сердечной смертью (ВСС) однонуклеотидных вариантов rs12170546 гена *PARVB*, rs78143315 гена *PDCD6IP*, rs13246896 гена *HDAC9*, rs35089892 гена *CAMK2B*, rs62116755 гена *GACAT3*, выявленных в собственном полногеномном ассоциативном исследовании [1].

Методы и алгоритмы: Группа ВСС ($n = 391$, средний возраст 52.9 ± 9.2 лет, мужчины – 77.2 %, женщины – 22.8 %) сформирована с использованием критериев ВСС ВОЗ и Европейского общества кардиологов, группа контроля ($n = 387$, средний возраст 52.4 ± 8.8 лет, мужчины – 62.3 %, женщины – 37.7 %) сформирована из банка ДНК международных исследований HAPIEE и MONICA. ДНК выделена методом фенолхлороформной экстракции. Генотипирование выполнено методом ПЦР с последующим анализом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов.

Результаты: Не выявлено статистически значимых различий между группой ВСС и контрольной группой по частотам генотипов rs78143315 гена *PDCD6IP*, rs62116755 гена *GACAT3*, rs13246896 гена *HDAC9*. Генотип ТТ rs12170546 гена *PARVB* является генотипом риска ВСС (ОШ = 1.66, 95 % ДИ 1.25–2.21, $p = 0.001$). Генотип ТС rs12170546 гена *PARVB* и генотип ТТ rs35089892 гена *CAMK2B* ассоциированы с протективным эффектом в отношении ВСС (ОШ = 0.67, 95 % ДИ 0.50–0.90, $p = 0.009$; ОШ = 0.49, 95 % ДИ 0.28–0.8, $p = 0.01$ соответственно).

Заключение и доступность: Не подтверждена ассоциация с ВСС для rs78143315 гена *PDCD6IP*, rs62116755 гена *GACAT3*, rs13246896 гена *HDAC9*. Однонуклеотидные варианты rs12170546 гена *PARVB* и rs35089892 гена *CAMK2B* ассоциированы с ВСС.

Благодарности: Исследование выполнено при поддержке стипендии Правительства Новосибирской области.

Список литературы

1. Бабенко В.Н. и др. (2014) Полногеномный анализ пулированных выборок ДНК когорт человека. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 18(4-2):847-855.

СЛЕДЫ ЕСТЕСТВЕННОГО ОТБОРА В ГЕНЕ ХОЛОДОВОГО РЕЦЕПТОРА *TRPM8* ЧЕЛОВЕКА

А.В. Игошин*, К.В. Гунбин, Т.А. Потапова, А.Г. Ромащенко, Н.С. Юдин, М.И. Воевода

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: igoshin@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: *TRPM8*, ОНП, частоты аллелей, следы отбора, корреляция, климат

Мотивация и цели: В настоящее время интенсивно изучают следы адаптации в геноме человека [1]. Ионный канал *TRPM8* является холодовым рецептором и активируется при 8–28 °С. Известно, что однонуклеотидные полиморфные (ОНП) варианты в гене *TRPM8* ассоциированы с индексом массы тела, объемом талии, уровнем триглицеридов в крови, чувствительностью к холоду и другими показателями терморегуляции у человека [2]. Можно предположить, что ген *TRPM8* играет большую роль в адаптации к холодному климату. Целью работы являлся поиск следов отбора в гене *TRPM8* человека.

Методы и алгоритмы: Информацию по частотам аллелей ОНП в 53 популяциях мира получали из проекта HGDP (<http://hgdp.uchicago.edu/data/Alfreqs>). Каждой из популяций в соответствие ставили значение средней минимальной температуры самого холодного месяца в районе ее преимущественного проживания, взятое из данных национальных метеорологических служб. Следы отбора анализировали путем вычисления коэффициента ранговой корреляции между температурой и частотой аллеля. При выборе уровня значимости вводили поправку Бонферрони. Для подтверждения результатов проводили пермутационный тест на 1 000 000 итераций.

Результаты: Из 410 ОНП 158 являлись мономорфными. Среди полиморфных обнаружены семь ОНП (rs17864755, rs728671, rs1016062, rs17864768, rs2885478, rs17864770, rs11563206), каждый из которых имеет статистически достоверную корреляцию ряда минорных аллелей с рядом температуры. Эти статистические различия подтверждаются пермутационным тестом. При разбиении популяций на группы по географическим регионам корреляция не достигает уровня значимости. Минорные аллели данных вариантов у *Homo sapiens* являются производными, и отсутствуют у неандертальца, денисовского человека и человекообразных обезьян. **Заключение:** Обнаружена ассоциация между частотами аллелей семи ОНП в 53 популяциях мира и средней минимальной температурой самого холодного месяца в районе их проживания. Это может свидетельствовать в пользу действия отбора на ген *TRPM8* у человека.

Список литературы

1. Fan S., Hansen M.E., Lo Y., Tishkoff S.A. (2016) Going global by adapting local: A review of recent human adaptation. *Science*. 354(6308):54–59.
2. Козырева Т.В., Ткаченко Е.Я., Потапова Т.А. Воевода М.И. (2014) Реакция респираторной системы на локальное охлаждение у людей с однонуклеотидным полиморфизмом rs11562975 гена термочувствительного ионного канала *TRPM8*. *Физиология человека*. 40(2):94–98.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОФИЛЕЙ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ-СУПРЕССОРОВ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА *VHL* И *RASSF1* У ПАЦИЕНТОВ СО СВЕТЛОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ПОЧКИ

Е.А. Климентова^{1*}, И.Р. Гилязова¹, И.М. Султанов², В.Н. Павлов²,
Э.К. Хуснутдинова¹

¹ Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, Россия

² Башкирский государственный медицинский университет Минздрава РФ, Уфа, Россия

*e-mail: lissa987@yandex.ru

Ключевые слова: рак почки, экспрессия генов, *VHL*, *RASSF1*

Актуальность: Согласно современным исследованиям, частым событием при развитии светлоклеточного рака почки (СРП) является изменение уровня экспрессии гена фон Хиппеля–Линдау (*VHL*), а также других генов-супрессоров опухолевого роста, таких как ген Ras-ассоциированного семейства белков (*RASSF1*).

Цель: Провести анализ профилей экспрессии генов-супрессоров опухолевого роста *VHL* и *RASSF1* в опухолевой ткани почки и нормальной почечной паренхиме пациентов с СРП из Республики Башкортостан.

Материалы и методы: Анализ экспрессии был проведен на 30 парных образцах опухолевой и нормальной ткани почки пациентов с ранними стадиями СРП. Выделение тотальной РНК осуществляли с помощью набора Total RNA isolation system (Promega, США). Обратную транскрипцию проводили с использованием набора RevertAid™ First Strand cDNA (Fermentas) в соответствии с протоколом фирмы-производителя. Количественную ПЦР в реальном времени осуществляли с использованием системы детекции продуктов ПЦР CFX96™ (BioRad). Для количественной оценки экспрессии генов применялся метод $2^{-\Delta Ct}$ ($\Delta Ct = Ct_{\text{Gene}} - Ct_{\text{housekeeping gene}}$).

Результаты: Проведенный анализ показал снижение экспрессии гена *VHL* ($M \pm SEM: 0.79 \pm 0.39$) и *RASSF1* ($M \pm SEM: 1.05 \pm 0.43$) в опухолевой ткани почки по сравнению с нормальной почечной паренхимой ($M \pm SEM: 1.73 \pm 0.52$ и $M \pm SEM: 1.32 \pm 0.31$ соответственно). Однако различия в уровнях экспрессии в опухолевой и нормальной ткани почки генов *VHL* и *RASSF1* не достигли статистической значимости ($p = 0.175$ и $p = 0.619$ соответственно). Известно, что снижение экспрессии *RASSF1* при раке почки коррелирует с клинико-патологическими параметрами опухоли [1] и ассоциировано с плохим прогнозом при СРП [2].

Выводы: Отсутствие статистически значимых различий в экспрессии исследуемых генов в опухолевой и нормальной ткани почки, возможно, связано с клинико-патологическими характеристиками опухоли, а также с этноспецифичностью изученной группы пациентов.

Список литературы

1. Tezval H. et al. (2008) RASSF1A protein expression and correlation with clinicopathological parameters in renal cell carcinoma. *BMC Urology*. 8:12.
2. Klacz J. et al. (2016) Decreased expression of RASSF1A tumor suppressor gene is associated with worse prognosis in clear cell renal cell carcinoma. *Intern. J. Oncology*. 48(1):55-66.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА В ЗАПАДНО-СИБИРСКОМ РЕГИОНЕ

Е.В. Ковалева¹, В.В. Морозов¹, Б.М. Доронин², Ю.В. Серяпина^{1*}, С.Г. Маркова¹

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный медицинский университет, Новосибирск, Россия

*e-mail: seryapina.jv@gmail.com

Ключевые слова: инсульт, перекисное окисление липидов, фактор риска, HIF1a

Мотивация и цели: В последние годы показано, что в развитии острых нарушений мозгового кровообращения (ОНМК) большую роль играют нарушение равновесия анти- и прооксидантных систем и развитие окислительного стресса. Наиболее перспективным представляется изучение молекулярно-генетических маркеров прогрессирующего окислительного стресса в качестве предикторов сосудистых заболеваний и ишемического инсульта (ИИ). Существуют указания на ассоциации развития ИИ с носительством полиморфных вариантов генов глутатион-пероксидазы GPX C599T, НАДФ-Н оксидазы p22phox C242T, марганцевой супероксиддисмутаза MnSOD C47T, гипоксия-индуцированного фактора HIF1a C1772T. Поиск универсальных генетических факторов риска развития ишемического инсульта является актуальным, особенно с учетом неблагоприятной эпидемиологической ситуации. Цель исследования – изучение полиморфных вариантов генов окислительного стресса как вероятных предикторов ишемического инсульта в Западно-Сибирском регионе.

Методы и алгоритмы: В исследование включены пациенты с ишемическим инсультом, подтвержденным клинически и по данным МРТ (1200 чел.). Контрольную группу составили 500 чел. Определение аллельных вариантов генов проводилось с помощью ПЦР в режиме реального времени с использованием конкурирующих TaqMan-зондов, комплементарных полиморфным участкам ДНК.

Результаты: Статистически значимые различия частоты встречаемости полиморфных аллелей между группами показаны для гена HIF1a, редкий аллель является фактором риска возникновения ишемического инсульта с отношением шансов 1.603 при $p = 0.0106$. Коррелятивных связей носительства редких аллелей генов MnSOD, GPX-1 и p22phox и риска развития ишемического инсульта не выявлено.

Заключение: Таким образом, редкий аллель гена гипоксия-индуцированного фактора HIF1a является предиктором развития ишемического инсульта. Прочие исследованные полиморфные варианты генов перекисного окисления липидов не оказывают значимого влияния на риск развития ИИ.

Доступность: В популяции Западно-Сибирского региона выявлены этно-генетические особенности в структуре молекулярно-генетических факторов риска развития ишемического инсульта. Поиск маркеров для персонифицированной диагностики и лечения ИИ должен быть продолжен. Планируется расширение возможностей генетического тестирования в повседневной практике.

ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ДИАГНОЗОМ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

Д.И. Козлова^{1,2}, А.В. Попов^{1*}

¹ Научно-производственная фирма «АБРИС+», Санкт-Петербург, Россия

² Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, Санкт-Петербург, Россия

*e-mail: popovsh@yandex.ru

Ключевые слова: ревматоидный артрит, плазма крови, белки острой фазы

Мотивация и цель: Ревматоидный артрит (РА) представляет собой аутоиммунное заболевание, характерной чертой которого являются деструктивные изменения симметричных суставов. Существующие методы его выявления в период ранних доклинических симптомов имеют ограниченную чувствительность и специфичность, что осложняет своевременную диагностику и лечение. Целью исследования является поиск изменений содержания провоспалительных белков в плазме крови пациентов с аутоиммунными нарушениями по ревматоидному типу, а также у пациентов с клинически подтвержденным диагнозом ревматоидного артрита.

Материалы и методы: Исследование производится в плазме крови четырех групп пациентов: без аутоиммунных нарушений – контрольная (К); с нарушениями по ревматоидному типу (РТ); с диагностированным ревматоидным артритом (РА; более 5 лет); с заболеваниями опорно-двигательного аппарата, не связанными с аутоиммунной патологией – негативный контроль (НК). Материал для исследования получают путем забора центральной крови в пробирку с литий-гепарином и последующего центрифугирования при 2000g 15 минут. Выделенную таким образом плазму крови используют для фракционирования белков методом диск-электрофореза в 8 % и 15 % полиакриламидных гелях в денатурирующих условиях с последующим окрашиванием раствором Кумасси G-250. Анализ проводят системой гель-документирования BioRad ChemiDoc.

Результаты: В плазме крови пациентов группы РТ наблюдается существенное повышение содержания таких белков острой фазы, как: $\alpha 1$ -кислый гликопротеин, $\alpha 1$ -антихимотрипсин, С-реактивный белок, а также увеличение количества интерферона- β , по сравнению с пациентами группы РА. В группах К и НК данные белки экспрессированы слабо и различия между этими группами отсутствуют. Продемонстрированные нами изменения показателей плазмы крови пациентов группы РТ могут свидетельствовать о начале развития острого воспалительного процесса по аутоиммунному типу, характерному для ревматоидного артрита, что обусловлено нарушением функционирования иммунной системы.

Заключение и доступность: Дальнейшие исследования выявленных нами изменений у пациентов групп РА и РТ позволят диагностировать ревматоидный артрит на ранней стадии, когда используемые лабораторные тесты еще не способны подтвердить предполагаемый диагноз. На основе полученных данных будут созданы тест-системы скрининговой диагностики, адаптированные для использования бюджетными и коммерческими медицинскими учреждениями.

Благодарность: За предоставленный материал ФГБУЗ «Санкт-Петербургская клиническая больница Российской академии наук».

ГЕНОМНЫЙ УРОВЕНЬ РЕГУЛЯЦИИ В ФОРМИРОВАНИИ ТЕРМОРЕГУЛЯТОРНЫХ И ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ ПРИ ДЕЙСТВИИ ХОЛОДА НА ОРГАНИЗМ

Т.В. Козырева

Институт физиологии и фундаментальной медицины, Новосибирск, Россия

e-mail: Kozyreva@physiol.ru

Ключевые слова: экспрессия генов, TRP ионные каналы, терморегуляция, иммунный ответ, холод

Осуществление защитных реакций – это сложный процесс, который происходит с вовлечением многообразных механизмов, затрагивающих генный, молекулярный, гормональный и нервный уровни регуляции. Все эти уровни регуляции связаны между собой широким спектром взаимодействий. Температурный афферентный сигнал, формируясь на основе термочувствительных ионных каналов, является регулирующим фактором взаимодействия физиологических систем.

В докладе будет рассмотрено формирующее значение терморцепторных структур и TRP ионных каналов в реализации ответа терморегуляторной и иммунной систем организма на температурное воздействие. Будут представлены данные, характеризующие следующее: роль термочувствительных кальций-зависимых TRP ионных каналов в этих процессах; характер геномного уровня регуляции будет представлен данными о влиянии длительного и кратковременного температурного воздействия на экспрессию генов термочувствительных TRP ионных каналов и серотониновых рецепторов в структурах мозга, а также зависимости характеристик чувствительности человека к холоду от полиморфизма гена холодочувствительного ионного канала TRPM8. Будут рассмотрены особенности развития термозащитных и иммунных реакций на холоде при такой распространенной патологии, как артериальная гипертензия. Представлены данные об изменении экспрессии генов термочувствительных ионных каналов в нервных и иммунных структурах, что, по-видимому, является одним из регуляторных механизмов наблюдающихся сдвигов в реакции организма на температурное воздействие при артериальной гипертензии.

ИССЛЕДОВАНИЕ АССОЦИАЦИИ ПОЛИМОРФИЗМА C-889T ГЕНА IL-1 α С РИСКОМ РАЗВИТИЯ ТРУБНО-ПЕРИТОНЕАЛЬНОГО БЕСПЛОДИЯ

А.В. Лапштаева*, И.В. Сычев

Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, Саранск, Россия

*e-mail: av_lapshtaeva@mail.ru

Ключевые слова: бесплодие, цитокины, IL-1 α

Мотивация и цели: В настоящее время одной из первостепенных медицинских задач, определяющей возможность воспроизводства вида и сохранения генофонда является поддержание и восстановление репродуктивного здоровья населения. Трубно-перитонеальное бесплодие у женщин занимает ведущее место в структуре бесплодного брака и диагностируется в 35–55 % случаев [1, 2]. В развитии данного многофакторного заболевания помимо участия экзогенных причин важно учитывать генетическую этиологию данного заболевания. Цель настоящего исследования – выявить ассоциацию полиморфизма C-889T гена IL-1 α с риском развития трубно-перитонеального бесплодия в российской популяции.

Методы и алгоритмы: В исследовании принимали участие 120 пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием, проходивших лечение в ГБУЗ РМ «Мордовский республиканский клинический перинатальный центр», контрольную группу составили 50 здоровых женщин с доказанной фертильностью. Выделение геномной ДНК из образцов периферической крови проводили с использованием наборов QIAamp DNA MiniKit (QIAGEN, Германия) на автоматической станции QIAcube. Исследование генотипов осуществляли методом полимеразной цепной реакции, с последующим секвенированием. Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета прикладных программ Statistica 10.0 (США).

Результаты: При проведении исследования выявлено, что в группе женщин с трубно-перитонеальным бесплодием достоверно чаще встречается генотип C/C ($p_{3/2/1} < 0.05$), в отличие от генотипов C/T и T/T, а носительство гетерозиготного генотипа C/T достоверно чаще встречается, в отличие от генотипа T/T ($p = 0.012$). Необходимо отметить, что у женщин в контрольной группе носительство генотипа C/T и C/C также преобладает над носительством генотипа T/T ($p_{1-2} < 0.05$; $p_{1-3} < 0.05$). Таким образом, в обеих группах преобладает сочетание носительства генотипов C/C и C/T по сравнению с генотипом T/T.

Заключение: Проведенное исследование не установило ассоциации полиморфизма C-889T гена IL-1 α с риском развития трубно-перитонеального бесплодия, что может быть объяснено как особенностями данной выборки, так и недостаточным объемом наблюдений.

Список литературы

1. Комиссарова Ю.В. и др. (2010) Трубно-перитонеальное бесплодие: клиническое значение определения сосудисто-эндотелиального фактора роста в прогнозировании синдрома гиперстимуляции яичников. *Акушерство и гинекология*. 4:50-54.
2. Мотовилова Н.О. и др. (2012) Роль некоторых цитокинов в эффективности лечения бесплодия методом экстракорпорального оплодотворения. *Мед. иммунология*. 14(4-5):373-382.

ЧАСТОТЫ ГАПЛОТИПОВ ГЕНА *HFE* СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ С РАЗНЫМИ ФОРМАМИ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

С.В. Михайлова^{1*}, А.В. Бархаш¹, И.В. Козлова², И.А. Борищук³, М.И. Воевода¹

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск, Россия

³ Иркутская областная инфекционная клиническая больница, Иркутск, Россия

*e-mail mikhail@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: ген *HFE*, клещевой энцефалит, гаплотипический анализ

Мотивация и цели: Ранее нами было показано, что европеоидная и монголоидная расы существенно различаются по частотам некоторых внутригенных гаплотипов гена *HFE*. Этот ген находится вблизи генов главного комплекса гистосовместимости на 6-й хромосоме, где наблюдается существенное неравновесие по сцеплению. Известно, что максимальный вклад в отбор по генам данного локуса вносят инфекции, с которыми сталкиваются популяции человека. Мы предположили, что одной из таких инфекций в ходе заселения человеком Азии мог быть вирусный клещевой энцефалит (КЭ).

Методы: Проведено генотипирование и гаплотипический анализ 119 русских пациентов с диагнозом КЭ из Новосибирска и Иркутска, не подвергавшихся профилактической вакцинации и введению гамма-глобулина после укуса клещом, с различными клиническими формами КЭ (лихорадочной – 38 чел, менингеальной – 48 чел., менинго-энцефалитической (МЭ) – 33 чел.) по полиморфизмам rs1799945, rs1800730, rs1800562, rs2071303, rs1800708, rs1572982 гена *HFE*. В качестве контроля использовали популяционную выборку подростков г. Новосибирска (356 чел.).

Результаты: Частоты внутригенных гаплотипов гена *HFE* не различались в суммарной выборке пациентов и популяционной выборке. Однако среди пациентов с наиболее тяжелой МЭ формой КЭ была повышена частота гаплотипа ТТА по интронным полиморфизмам rs2071303, rs1800708 и rs1572982 (0.21 против 0.14 в популяции и 0.06 среди пациентов с наиболее легкой лихорадочной формой, $p < 0.001$ и $p = 0.029$ соответственно). В разных этнических группах Евразии его частота составляет от 0.02 до 0.2.

Заключение: Не было обнаружено различий в частоте гаплотипа ССА гена *HFE* (максимально различающейся между расами) между пациентами с КЭ и популяционной выборкой русских. Для гаплотипа ТТА показаны достоверные отличия между пациентами с лихорадочной, МЭ формами КЭ и популяционной выборкой русских, что говорит о возможности отбора против сцепленных с данным вариантом гаплотипов на 6-й хромосоме. Для получения более точной информации требуется расширение выборки пациентов и анализ близлежащих генов.

ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ДВУХ И БОЛЕЕ ГЕНОТИПОВ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

М.П. Мошкин^{1*}, Л.А. Герлинская¹, Н.А. Феофанова², Ю.М. Мошкин¹

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Институт клинической иммунологии СО РАМН, Новосибирск, Россия

*e-mail: mmp@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: репродукция, система мать–плод, иммуногенетический диалог, экстракорпоральное оплодотворение

Генетические основы межорганизменных взаимодействий при беременности относятся к одному из значимых направлений научной школы академика Д.К. Беляева. Это отражает цикл работ его учеников, посвященный анализу генетико-физиологических взаимоотношений организмов матери и эмбрионов как значимому фактору становления жизнеспособности и плодовитости потомков (см. Беляев, Евсиков, 1962; Евсиков, Морозова, 1977; и др.). Дальнейшее развитие работ, выполненное на мышах, показало, что пересадка чистопородных эмбрионов к матерям иной генетической принадлежности улучшает эндокринное обеспечение беременности и отражается на устойчивости потомков к социальным стрессам (Gerlinskaya, Evsikov, 2001). Подобные эффекты были получены также при введении самкам мышей в первые сутки после внутрилинейного скрещивания клеток крови, которая была взята от самцов, отличающейся по генам главного комплекса гистосовместимости (Gerlinskaya et al., 2001). Эти эксперименты свидетельствуют о реальном вкладе иммуногенетических различий родителей в реализацию репродуктивного потенциала млекопитающих.

Сегодня значимость генетического соответствия брачных пар как ключевого фактора успешной беременности существенно возрастает, поскольку все больший вклад в воспроизводство людей и сельскохозяйственных животных вносят технологии экстракорпорального оплодотворения (ЭКО). В этом случае эмбрион, являющийся генетической комбинацией доноров яйцеклеток (мать) и сперматозоидов (отец), развивается в организме суррогатной матери, которая имеет свой генотип и свой набор генов главного комплекса гистосовместимости, определяющих иммуногенетический диалог в системе «мать–плод». Первые результаты, полученные нами при экспериментальном изучении феногенетической значимости *in vitro* фертилизации, показывают, что не только генотипы особей, вовлеченных в процедуру ЭКО, оказывают влияние на эмбриональное и постнатальное развитие потомков. *In vitro* фертилизация сама по себе приводит к снижению стабильности экспрессии генов, отражением которой является рост билатеральной флюктуирующей асимметрии транскриптомов. Кроме того, у потомков, полученных по ЭКО технологии, отмечается предрасположенность к ожирению.

Развитие работ в данном направлении позволит сформировать базу знаний, необходимую как для оптимального подбора генотипов при выполнении ЭКО, так для и создания условий культивирования эмбрионов при *in vitro* фертилизации.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ДЕМОГРАФИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ: ЗНАЧЕНИЕ МУЖСКОГО РЕПРОДУКТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА

А.В. Осадчук

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

e-mail: osadchuk@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: сперматогенез, репродуктивные гормоны, фертильность

Мотивация и цели: Глобальный тренд в снижении сперматогенной функции у мужского населения, наблюдаемый во многих странах мира, в совокупности с демографическими проблемами в Российской Федерации ставят задачу широкого скрининга и мониторинга потенциальной мужской фертильности и выяснения ее эколого-генетических механизмов. Целью настоящего исследования являлось, во-первых, выяснение паттерна межрегиональных различий в сперматогенных и гормональных показателях репродуктивного потенциала на широком евразийском пространстве Российской Федерации и Республики Беларусь. Во-вторых, изучение факторов образа жизни: избыточного веса, потребления алкоголя, табакокурения и малоподвижности на параметры сперматогенной и гормональной функции мужчин.

Методы и алгоритмы: Исследование проведено на более 1.4 тыс. молодых мужчин-добровольцев шести городов: Минск, Архангельск, Новосибирск, Кемерово, Улан-Удэ и Якутск. У них определялся объем эякулята, общее количество, концентрация и подвижность сперматозоидов, а также репродуктивные пептидные и стероидные гормоны в сыворотке крови.

Результаты: По всем сперматогенным показателям выявлены существенные региональные различия, которые, как показал регрессионный анализ, демонстрируют достоверный меридианный координированный градиент, проявляющийся в градуальном повышении всех показателей сперматогенеза в западном направлении. Анализ кривых распределения продукции сперматозоидов выявил ее экспоненциальный характер, свидетельствующий о том, что низкий уровень сперматогенеза представлен наибольшей частотой в исследованных популяциях. На основе 6-факторного ANCOVA анализа установлено, что ингибирующие влияние избыточного веса и табакокурения на сперматогенез и уровень ингибина В и ответная компенсаторная активация гонадотропной функции гипофиза характерны только для непьющих мужчин. В то же время умеренное потребление алкоголя оказывало протективный эффект. Напротив, курение усугубляло негативное влияние избыточного веса тела.

Заключение: Полученные данные указывают на потенциальные риски, связанные с воспроизводством населения. Снижение мужского репродуктивного потенциала может формироваться, во-первых, за счет антропогенного загрязнения окружающей среды и факторов нездорового образа жизни, во-вторых, эти же факторы могут вызывать изменение профиля метилирования ДНК сперматозоидов, которое приводит к длительным эпигенетическим модификациям репродуктивной функции. Наконец, в-третьих, за прошедший век произошло преимущественное планирование малодетных семей, что фактически приводит к массовому искусственному отбору на снижение фертильности, поскольку нивелирует разницу по вкладу в потомство между мужчинами с высоким и низким репродуктивными потенциалами.

МИШЕНИ ДЛЯ ПАТОГЕННОЙ ФОРМЫ ХАНТИНГТИНА В БЕЛОК-БЕЛКОВЫХ СЕТЯХ ДЕНДРИТНЫХ ШИПИКОВ ГИППОКАМПА

А.Л. Проскура*, Т.А. Запара, А.С. Ратушняк

Институт вычислительных технологий СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: annleop@mail.ru

Ключевые слова: хантингтин, белок-белковые взаимодействия, SH3 домен

Мотивация и цели: Болезнь Хантингтона (БХ) является наследственным нейродегенеративным заболеванием, причиной которого служит нарушение в структуре молекулы белка хантингтина (Htt). В норме Htt взаимодействует с широким кругом белков, обладающих SH3 (Src homology 3), WW (обладает двумя триптофанами (W)), EVH1 (Enabled, VASP, Homology 1) доменами, которые задействованы во множестве клеточных процессов [1]. Когнитивные нарушения и аберрантная синаптическая пластичность в поле CA1 гиппокампа возникают еще до проявления классических симптомов заболевания [2]. Идентификация белков, взаимодействующих с патогенным Htt в гиппокампе, выступает актуальной задачей, решение которой будет способствовать лучшему пониманию механизмов развития патологии и поиску подходов для ранней диагностики и корректирующей терапии при БХ.

Методы и алгоритмы: Выборка белков формировалась на основании данных базы GeneNet [3], первичные белковые последовательности экстрагировались из Swiss-Prot. Сравнение последовательностей проводилось с использованием алгоритма Смитта-Уотермана (http://www.ebi.ac.uk/Tools/psa/emboss_water/).

Результаты: Проведен анализ доменной структуры белков, регулирующих синаптическую пластичность в гиппокампе. Известно, что патогенный Htt взаимодействует с SH3 доменами белков SH3GL3 и PACSIN1 с более высокой аффинностью [1]. Была сформирована выборка участков SH3 доменов белков базы данных GeneNet, проведен анализ схожести их аминокислотных последовательностей с SH3 доменами SH3GL3, PACSIN1. Обнаружен высокий уровень схожести для белков-регуляторов ремоделирования нитей актина (кортактин, спектрин, DBNL, альфаPIX, бетаPIX) и ключевых скаффолдов постсинапса (белки семейств DLG, SHANK).

Заключение: Мы выдвигаем предположение, что у патогенной формы Htt круг мишеней может расширяться за счет усиления аффинности белок-белковых взаимодействий, что может обуславливать структурно-функциональные нарушения в гиппокампе на продромальной стадии БХ.

Благодарности: В работе использованы материалы, полученные при выполнении базового проекта фундаментальных исследований РАН IV.35.1.5, грантов РФФИ № 15-29-04875-офи_м и 17-04-01440-а.

Список литературы

1. Gao Y.G. et al. (2006) Structural insights into the specific binding of huntingtin proline-rich region with the SH3 and WW domains. *Structure*. 14:1755-1765.
2. Murphy K.P. et al. (2000) Abnormal synaptic plasticity and impaired spatial cognition in mice transgenic for exon 1 of the human Huntington's disease mutation. *J. Neurosci*. 20:5115-5123.
3. Проскура А.Л. и др. (2013) Межмолекулярные взаимодействия в функциональных системах нейрона. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 17:620-628.

ИЗМЕНЕНИЕ НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ МОЗГА ПРИ РАЗВИТИИ ПРИЗНАКОВ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА У КРЫС OXYS

Е.А. Рудницкая*, Н.А. Стефанова, Н.Г. Колосова

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: rudnickaya@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: нейротрофические факторы, болезнь Альцгеймера, крысы OXYS

Мотивация и цель: Болезнь Альцгеймера (БА) – наиболее распространенная форма сенильной деменции. Изменение с возрастом нейротрофического обеспечения головного мозга может вносить вклад в развитие БА, однако механизмы, лежащие в его основе, изучены недостаточно. Такая ситуация обусловлена отсутствием адекватных биологических моделей заболевания. Уникальной моделью БА является линия преждевременно стареющих крыс OXYS. Цель работы – исследование изменения нейротрофического обеспечения головного мозга при развитии признаков БА у крыс OXYS.

Материалы и методы: Изменение уровня мРНК генов сигнального пути нейротрофинов в мозге анализировали, используя данные массового параллельного секвенирования (RNA-seq). Содержание нейротрофического фактора мозга (BDNF) и p75^{NTR} -рецептора определяли методом иммуноферментного анализа. Содержание незрелой формы BDNF (проBDNF), TrkB- и фTrkB-рецептора определяли методом вестерн-блот анализа. Солокализацию белков определяли методом иммуногистохимии.

Результаты: В возрасте 20 дней и 5 мес. в префронтальной коре головного мозга крыс OXYS повышен уровень мРНК 4 генов сигнального пути нейротрофинов (согласно базе данных KEGG pathway), а в 18 мес. – уровень мРНК 12 генов повышен, а 9 – снижен по сравнению с крысами Вистар (контроль). В 20 дней в гиппокампе крыс OXYS и Вистар различия в уровне мРНК генов сигнального пути нейротрофинов отсутствуют. В 5 мес. в гиппокампе крыс OXYS повышен уровень мРНК гена *Shc4*, а в 18 мес. – снижен уровень мРНК 6 генов, ассоциированных с сигнальным путем нейротрофинов. В 20 дней уровень BDNF не различается в гиппокампе крыс обеих линий. У крыс Вистар с возрастом уровень BDNF снижается постепенно, у крыс OXYS – повышается к 3 мес. и прогрессивно снижается к 18 мес., при этом преобладает проапоптотический проBDNF. Значимые различия в уровне TrkB-рецептора и степени его активации в префронтальной коре крыс OXYS и Вистар отсутствуют, тогда как в гиппокампе 18-месячных крыс OXYS снижена степень активации TrkB-рецептора. Частота солокализации в гиппокампе и префронтальной коре зрелого BDNF и TrkB-рецептора в 3 мес., а проBDNF и p75^{NTR} -рецептора – в 3 и 18 мес. выше у крыс OXYS.

Заключение и доступность: Таким образом, в период, когда фенотипические признаки БА отсутствуют (20 дней), нейротрофическое обеспечение головного мозга крыс OXYS и Вистар не различается. Манифестация признаков заболевания (3–5 мес.) у крыс OXYS сопровождается активацией сигнального пути нейротрофинов, которая может носить компенсаторный характер. Прогрессия признаков БА (18 мес.) характеризуется ослаблением нейротрофического обеспечения головного мозга крыс OXYS.

Благодарности: Работа поддержана Российским научным фондом (16-15-10005).

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ДИАГНОСТИКИ ВЫСОКОГО РИСКА РАЗВИТИЯ ВАРИКОЗНОЙ БОЛЕЗНИ

Ю.В. Серяпина*, А.И. Шевела, В.В. Морозов

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

**e-mail: seryapinajv@gmail.com*

Ключевые слова: *варикозная болезнь, фактор риска, матриксные металлопротеиназы, MMP12, VEGF*

Мотивация и цели: Варикозная болезнь нижних конечностей является широко распространенным, наследственно обусловленным заболеванием. Согласно современным представлениям, в основе патогенеза варикозной болезни лежит генетическое нарушение в регуляции компонентов внеклеточного матрикса. Дегградация компонентов, формирующих внеклеточный матрикс, происходит в результате воздействия протеолитических ферментов, синтезируемых эндотелиоцитами и макрофагами. С другой стороны, усиление пролиферативных процессов в межклеточном матриксе происходит при непосредственном воздействии ростовых факторов, в том числе сосудисто-эндотелиального фактора роста VEGF. Цель исследования – изучение влияния носительства полиморфных вариантов генов матриксных металлопротеиназ MMP3, MMP12 и сосудисто-эндотелиального фактора роста VEGF на риск развития варикозной болезни нижних конечностей.

Методы и алгоритмы: Основную группу составили 270 пациентов с варикозной болезнью клинического класса C2-C6 по CEAP, контрольную – 150 пациентов без венозной патологии. ДНК для генетического анализа выделена из цельной венозной крови методом фенол-хлороформной экстракции. Определение аллельных вариантов 1171 dupA (5A/6A) гена MMP3, 82 A/G гена MMP12, 634 G/C гена VEGF методом аллель-специфичной ПЦР в формате Real-Time.

Результаты: Статистически значимых различий встречаемости редкого аллеля 1171 dupA (5A/6A) гена MMP3 в исследуемых группах не обнаружено. Показано, что носительство полиморфного аллеля гена MMP12 является фактором риска развития варикозной болезни, $OR=3.455$ ($p = 0.00002$), для гомозиготных носителей аллеля А риск выше в 12.5 раза ($p = 0.00016$) по сравнению с диким типом. Также для носителей полиморфного аллеля гена VEGF выявлено увеличение риска варикозной болезни, $OR = 3.261$ ($p = 0.00034$), а при гомозиготном генотипе риск составляет 6.321 ($p = 0.00011$).

Заключение: Таким образом, полиморфные варианты генов MMP12 и VEGF являются конституциональными предикторами варикозной болезни нижних конечностей.

Доступность: В зависимости от выявленной степени наследственного риска возможно расширение рекомендаций, ранние профилактические мероприятия, превентивное лечение. Кроме того, информация о генетических предикторах высокого риска развития варикозной болезни может быть использована для семейного консультирования и заострения внимания на усиленных профилактических мероприятиях.

РОЛЬ ГЕНОВ МАТРИКСНЫХ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗ В РАЗВИТИИ ИНТРАКРАНИАЛЬНЫХ АНЕВРИЗМ

Р.И. Султанова^{1*}, Р.И. Хусаинова^{1,2}, Э.К. Хуснутдинова^{1,2}

¹ Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

² Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, Россия

*e-mail: r-ka_@mail.ru

Ключевые слова: интракраниальная аневризма, гены-кандидаты, матриксные металлопротеиназы

Актуальность и цель: Интракраниальная аневризма (ИА) – это патологическое местное расширение просвета артерии головного мозга, чаще в области бифуркаций, приводящее вследствие разрыва к субарахноидальным кровоизлияниям (САК). По статистике, 50 % САК заканчивается летальным исходом либо неврологическими расстройствами различной степени тяжести и с риском повторного кровоизлияния. Этиология и патогенез ИА до сих пор до конца не установлены, известно, что данное многофакторное заболевание имеет генетическую основу. Необходим поиск эффективных способов прогнозирования возникновения ИА до их разрыва. Металлопротеиназы способны разрушать все типы белков внеклеточного матрикса и играть ключевую роль в ремоделировании тканей, участвующих в деградации коллагенов, ангиогенезе, пролиферации, дифференциации и миграции клеток. Обнаружена повышенная экспрессия генов, кодирующих эти белки, в стенках сосудов с аневризмами, что предполагает их значимость в патогенезе ИА. Целью исследования является поиск ассоциаций полиморфных вариантов *rs1799750* гена *MMP1*, *rs243865* *MMP2* и *rs35068180* гена *MMP3* с развитием ИА.

Материалы исследования: Образцы ДНК 311 больных с интракраниальными аневризмами и 284 практически здоровых индивидов в качестве контрольной выборки, русской этнической принадлежности из Волго-Уральского региона России.

Результаты: Обнаружена значимость полиморфного варианта *rs1799750* гена *MMP1*, где генотип *2G*2G оказался маркером повышенного риска развития ИА как в общей выборке ($p = 0.00002$; $\chi^2 = 17.63$; OR = 2.11 (95 % ДИ 1.48–2.99)), так и при разделении выборки по гендерным различиям: у мужчин ($p = 0.0004$; $\chi^2 = 12.42$; OR = 2.54 (95 % ДИ 1.51–4.30)) и женщин ($p = 0.01$; $\chi^2 = 5.75$; OR = 1.78 (95 % ДИ 1.11–2.86)). Генотип 1*G1*G этого локуса оказался протективным как в общей выборке ($p = 0.0009$; $\chi^2 = 10.90$; OR = 0.48 (95 % ДИ 0.31–0.75)), так и в группе мужчин с ИА ($p = 0.003$; $\chi^2 = 8.48$; OR = 0.40 (95 % ДИ 0.21–0.75)). Генотип *T*T полиморфного варианта *rs243865* гена *MMP2* ($p = 0.05$; $\chi^2 = 3.68$; OR = 1.38 (95 % ДИ 0.99–1.92)) также оказался маркером повышенного риска. Маркерами пониженного риска развития ИА оказались: генотип *C*C полиморфного варианта *rs243865* гена *MMP2* в общей выборке ($p = 0.01$; $\chi^2 = 5.80$; OR = 0.54 (0.33–0.90)), а также в группе мужчин ($p = 0.02$; $\chi^2 = 5.35$; OR = 0.46 (0.23–0.90)), а генотип 5*A5*A локуса *rs35068180* гена *MMP3* является протективным в общей выборке ($p = 0.05$; $\chi^2 = 3.74$; OR = 0.65 (95 % ДИ 0.42–1.00)) и у женщин ($p = 0.01$; $\chi^2 = 5.80$; OR = 0.46 (95 % ДИ 0.25–0.87)).

Заключение: Таким образом, выявлена значимость локусов *rs1799750* гена *MMP1* и *rs243865* гена *MMP2* в развитии ИА, полиморфизм *rs35068180* гена *MMP3* не ассоциирован с риском ИА в исследованной нами выборке. Полученные результаты подтверждают вовлеченность металлопротеиназ в патогенез интракраниальных аневризм.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ *GSTM1* И *GSTT1* В ПОПУЛЯЦИЯХ БУРЯТ, ТЕЛЕУТОВ И У РУССКИХ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ

Л.Э. Табиханова^{1*}, Л.П. Осипова^{1,2}, Т.В. Чуркина¹, Е.Н. Воронина^{2,3},
М.Л. Филипенко^{2,3}

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: tabikhan@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: генетический полиморфизм, *GSTM1*, *GSTT1*, буряты, телеуты, русские Восточной Сибири

Мотивация и цели: Ферменты системы биотрансформации ксенобиотиков, в том числе глутатион-S-трансферазы (GST), играют важную роль в защите организма от токсического действия экзогенных и эндогенных соединений. Целью настоящего исследования было определение в популяциях коренных жителей Сибири и у русских частот делеций генов («нулевых» генотипов) *GSTM1* и *GSTT1*, ассоциированных с риском развития онкологических заболеваний.

Методы: Исследование проведено среди бурят Забайкальского края ($n = 130$), телеутов Кемеровской области ($n = 115$) и русских ($n = 68$) Забайкалья. Генотипирование проводили с помощью ПЦР в режиме реального времени с использованием конкурирующих TaqMan-зондов.

Результаты: Частота гомозиготных носителей делеций по генам *GSTM1* и *GSTT1* в выборке бурят составила 36.9 и 41.5 % соответственно. «Нулевые» генотипы среди телеутов встречаются с существенно меньшей частотой – 17.4 и 24.8 %. Среди русских Забайкалья встречаемость гомозигот по делециям генов *GSTM1* и *GSTT1* составила 38.2 и 23.5 % соответственно.

Заключение: Показано, что у телеутов снижена частота нулевого генотипа *GSTM1* – маркера риска развития онкологических заболеваний, по сравнению с бурятами и русскими. В то же время в выборке бурят частота гомозиготных носителей делеции по гену *GSTT1* достоверно выше, чем у телеутов и русских Забайкалья.

Благодарности: Поддержано Программой РАН II.2П/VI.58-4. № 0324-2016-0029.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ *CYP2C9*, *CYP2D6*, *GSTM1*, *GSTT1*, *FV* И *FII* У РУССКИХ ЖИТЕЛЕЙ СЕВЕРНОЙ СИБИРИ

Р.П. Тийс^{1*}, Л.П. Осипова^{1,2}, Е.Н. Воронина^{2,3}, М.Л. Филипенко^{2,3}

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: kruosana@mail.ru

Ключевые слова: полиморфизм генов *CYP2C9*, *CYP2D6*, *GSTM1*, *GSTT1*, *FV*, *FII*, real-time PCR, персонализированная медицина, русские Сибиря

Мотивация и цель: Развитие методов молекулярной генетики позволяет ученым не только на популяционном, но и на индивидуальном уровне выявлять уникальные способности организма. Учитывая ухудшение экологической ситуации, широкое применение фармакологических препаратов и воздействие других химических веществ (канцерогенов и токсинов) на человека, появляется возможность проводить исследования по выявлению лиц, имеющих высокий риск предрасположенности к наследственным, мультифакториальным заболеваниям, включая онкологические. Определение устойчивости или повышенной чувствительности индивидов к важным терапевтическим лекарственным препаратам необходимо в целях своевременного предотвращения нежелательных побочных реакций в ответ на лечение. Подобные исследования являются основой для развития превентивной персонализированной медицины. На сегодняшний день выявлено множество ассоциаций между заболеваниями и носительством определенных полиморфных вариантов генов. В нашей лаборатории в популяциях коренного малочисленного и русского населения Севера Сибири исследуется полиморфизм генов системы биотрансформации ксенобиотиков (СБК), определяющий индивидуальную чувствительность к различным токсинам, и генов системы свертывания крови (ССК), имеющий связь с риском развития сердечно-сосудистых заболеваний. Целью данной работы являлось изучение полиморфных вариантов генов СБК *CYP2C9* (аллели *2 и *3), *CYP2D6* (аллели *3 и *4), *GSTM1* и *GSTT1* («нулевые» аллели), генов ССК *FV* (мутация Лейден *G1691A*) и *FII* (*G20210A*) у этнически чистых, не состоящих в родстве русских Севера Сибири.

Методы: Применялся метод real-time PCR с использованием конкурирующих Taq-Man-зондов и флуоресцентного интеркалирующего красителя SYBR Green I.

Результаты: Частоты мутантных аллелей для *CYP2C9**2 – 13.8 %, *CYP2C9**3 – 9.7 %, *CYP2D6**3 – 1.7 %, *CYP2D6**4 – 17.2 %, *GSTM1* 0 – 48 %, *GSTT1* 0 – 38.7 % (исследовано 346 чел); для мутации *FV* Лейден – 2.5 % ($n = 301$), *FII* *G20210A* – 0.7 % ($n = 304$).

Заключение: Полученные нами данные коррелируют с данными для других групп европейцев и русских, проживающих в других регионах РФ, однако могут применяться и в индивидуальном порядке в целях превентивной медицины.

Благодарности: Работа поддержана Программой РАН II.2П/V.58-4 №0324-2016-0029.

АНАЛИЗ СВЯЗИ РАЗВИТИЯ ПРИЗНАКОВ БОЛЕЗНИ АЛЬЦГЕЙМЕРА У КРЫС OXYS С ДИСФУНКЦИЕЙ МИТОХОНДРИЙ

М.А. Тюменцев*, Н.А. Муралева, Н.А. Стефанова
ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия
*e-mail: landsehur@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: болезнь Альцгеймера, митохондрии, крысы OXYS

Мотивации и цели: Болезнь Альцгеймера (БА) – это самое распространенное нейродегенеративное заболевание, приводящее к атрофическим изменениям мозга и деменции. Эффективных способов профилактики и лечения БА нет, что обусловлено неполнотой знаний о ее патогенезе. Множеством исследований подтверждена ключевая роль дисфункции митохондрий в развитии БА, но механизмы, инициирующие нарушение функций митохондрий, как и причинно-следственная связь между дисфункцией митохондрий и гиперпродукцией токсического Аβ при развитии БА, не ясны. Этот вопрос мы изучали на линии преждевременно стареющих крыс OXYS, у которых развиваются все основные признаки БА.

Методы и материалы: С помощью электронной микроскопии оценивали изменение с возрастом ультраструктуры митохондрий, их количество и площадь, количество межмитохондриальных контактов, контактов митохондрий с ЭПР и ядром в нейронах поля CA1 гиппокампа крыс Вистар и OXYS в возрасте, когда признаки БА у крыс OXYS отсутствуют (20 дней), в период их активной манифестации (5 мес.) и в период, когда они ярко выражены (24 мес.). Активность комплексов дыхательной цепи I и IV митохондрий гиппокампа и коры мозга крыс Вистар и OXYS в возрасте 20 дней, 4 и 18 мес. оценивали методом колориметрии. Продукцию АФК выделенными митохондриями мозга крыс Вистар и OXYS в возрасте 20 дней, 3 и 24 мес. исследовали методом флуориметрии, используя комбинации субстратов пирувата, глутамата, сукцината и малата.

Результаты: Митохондрии – это динамичные структуры, между их структурой и функциональной активностью существует тесная связь. Удельное количество митохондрий нейронов крыс OXYS, в отличие от Вистар, не увеличивается с возрастом. В возрасте 20 дней в нейронах гиппокампа крыс OXYS выявлены признаки активации биогенеза митохондрий, в 5 мес. – значительное и устойчивое снижение процессов митохондриальной динамики, а в 24 мес. – существенные деструктивные изменения нейрональных митохондрий и снижение частоты контактов митохондрий с ЭПР. Снижение ферментативной активности комплексов дыхательной цепи I и IV отражает нарушение функциональной активности митохондрий в мозге при БА. Их активность снижалась у крыс OXYS ускоренными темпами по сравнению с Вистар. Важно, что четкая тенденция к снижению активности обоих исследованных комплексов прослеживается уже в доклинический период (20 дней). Митохондрии – основной источник активных форм кислорода (АФК) в клетке. Выявленные деструктивные изменения их ультраструктуры указывают на существенные нарушения их функций и дают основания ожидать усиления генерации АФК. Однако только в возрасте 20 дней и только при окислении смеси пируват+малат генерация АФК у крыс OXYS выше, чем у Вистар (на ~30 %, $p < 0.05$).

Заключение: Полученные данные свидетельствуют в пользу связи развития признаков БА у крыс OXYS со структурно-функциональными изменениями митохондрий в мозге, однако вопрос о вкладе в их развитие усиленной генерации АФК остается открытым.

Благодарности: Работа поддержана грантом РНФ № 16-15-10005.

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ ФОРМИРОВАНИЯ АЛКОГОЛЬНОЙ ЗАВИСИМОСТИ В ПОПУЛЯЦИЯХ КОРЕННЫХ ЭТНОСОВ И РУССКИХ СИБИРИ

М.Р. Хантемирова^{1*}, Л.П. Осипова^{1,2}, Е.Н. Воронина³, М.Л. Филипенко³, В.С. Науменко¹, Д.В. Базовкина¹

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: khantemirova@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: алкогольная зависимость, полиморфизм генов-кандидатов, алкогольдегидрогеназа *ADH1B*, альдегиддегидрогеназа *ALDH2*, переносчик серотонина *SLC6A4*, сибирские этносы, русские

Мотивация и цели: В настоящий момент является актуальным исследовать полиморфизм генов-кандидатов, повышающих риск развития алкогольной зависимости в популяциях сибирских аборигенов, для которых неоднократно был показан повышенный процент смертности от алкоголизма по сравнению с русским населением тех же регионов. Цель – изучить этнические особенности полиморфизма генов-кандидатов (*ADH1B*, *ALDH2*, *SLC6A4*) у представителей самодийских этносов (тундровых ненцев, северных селькупов, нганасан), западных бурят и русских. **Методы:** Генотипирование однонуклеотидных замен в генах алкогольдегидрогеназы *ADH1B* и альдегиддегидрогеназы *ALDH2* проводилось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени; VNTR-полиморфизма в гене переносчика серотонина *SLC6A4* – методом локуспецифичной ПЦР.

Результаты: Частоты аллеля *ADH1B* *48His: западные буряты 0.215 ($n = 221$), тундровые ненцы 0.010 ($n = 249$), селькупы 0.002 ($n = 253$), нганасаны 0.011 ($n = 186$), русские 0.053 ($n = 266$). Статистически значимы отличия западных бурят и русских от других групп ($p < 0.001$). Частоты аллеля *ALDH**504Lys: западные буряты – 0.007 ($n = 220$), тундровые ненцы – 0.0 ($n = 247$), селькупы – 0.0 ($n = 249$), нганасаны – 0.006 ($n = 181$), русские – 0.0 ($n = 217$). Отличия между популяциями статистически не значимы. Частоты аллеля *L* 5-*HTTPR* гена *SLC6A4*: тундровые ненцы – 0.287 ($n = 127$), селькупы – 0.094 ($n = 80$). Отличия статистически значимы ($p < 0.001$).

Заключение: Специфические особенности метаболизма алкоголя, связанного с повышенным риском развития алкогольной зависимости, обнаружены для аллеля *ADH1B* *48His гена алкогольдегидрогеназы в выборках западных бурят и русских по сравнению с самодийскими этносами. Обнаружены также статистически значимые различия в частотах аллеля *L* 5-*HTTPR* гена переносчика серотонина *SLC6A4* между выборками тундровых ненцев и селькупов.

Благодарности: Работа поддержана бюджетным проектом ИЦиГ СО РАН (0324-2016-0002).

РЕГРЕССИЯ КАРЦИНОСАРКОМЫ Walker 256 У КРЫС СОПРОВОЖДАЕТСЯ ИЗМЕНЕНИЕМ СОСТАВА ЛАМИНИНА

И.И. Хегай

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

e-mail: khegay@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: карциносаркома Walker 256, вазопрессин, ламинин

Мотивация и цели: Карциносаркома Walker 256 представляет перевиваемую крысиную опухоль, полученную из первичного рака молочной железы, и широко используется в работах по оценке терапевтического эффекта фармакологических препаратов и молекулярно-генетических конструкций. Нами было обнаружено, что у крыс линии *Brattleboro* с дефектом синтеза вазопрессина существенно изменена динамика роста опухоли Walker 256 по сравнению с крысами *WAG*, экспрессирующими нормальный ген вазопрессина [1]. Исследование механизма регуляции пролиферации опухолевых клеток относится к наиболее актуальным проблемам онкологии. Целью работы было проанализировать наблюдаемый супрессирующий эффект у крыс на генетическом и биохимическом уровне.

Методы и алгоритмы: Конгенная сублиния крыс была выведена сегрегацией особей с нормальным вазопрессином в потомстве от скрещивания по схеме $(WAG \times Brattleboro)F_{n-1} \times Brattleboro$ и возвратного скрещивания с *Brattleboro* в течение 20 поколений. Половозрелым самцам в бедренную мышцу вводили по 10^6 клеток Walker 256. Далее раз в неделю измеряли и оценивали объем формирующейся опухоли. После первой и третьей недели роста опухоли фракционировали в полиакриламидном геле, определяли состав субъединиц ламинина.

Результаты: В процессе измерения растущих опухолей были выявлены существенные различия. У мутантных крыс *Brattleboro* после двух недель умеренного роста начинается уменьшение объема опухоли. У крыс *WAG* и конгенных гибридов с нормальным вазопрессином такая динамика не наблюдается и происходит примерно одинаковое дальнейшее линейное увеличение размеров опухоли. Регрессия опухоли у крыс *Brattleboro* сопровождается изменением спектра субъединиц ламинина. Если до начала регрессии полипептиды, образующие гетеротример ламинина в опухолевой ткани, находятся в эквимольном соотношении, то в состоянии регрессии опухоли к концу третьей недели происходит двукратное снижение концентрации α -цепи и шестикратное увеличение концентрации β -цепи ламинина. У крыс *WAG* и конгенных гибридов выявлена одинаковая картина с умеренным увеличением содержания α - и β -цепей при некотором снижении концентрации γ -цепей.

Заключение: Нейрогипофизарный гормон вазопрессин вовлечен в локальную регуляцию субъединичного состава ламинина в процессе роста карциносаркомы Walker 256. Детекция изменений в соотношении α -, β - и γ -цепей гетеротримера ламинина представляет новые возможности в диагностике стадий опухолей эпителиального происхождения.

Благодарности: Работа выполнена в рамках бюджетного проекта ИЦиГ СО РАН № 0324-2016-0002.

Список литературы

1. Khegay I.I., Popova N.A., Ivanova L.N. (2010) Reduced Walker 256 carcinosarcoma growth in vasopressin-deficient Brattleboro rats. *Tumor Biology*. 30(6):569-573.

БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ АНАЛОГИ АНТИТЕЛ НА ОСНОВЕ F_n3 ДОМЕНА ДЛЯ АДРЕСНОЙ ТЕРАПИИ РАКА ПРОСТАТЫ

Н.А. Чикаев¹, С.В. Гусельников^{1,2*}, К.О. Баранов¹, Л.В. Мечетина¹,
А.М. Наякшин¹, О.Ю. Волкова¹, А.В. Таранин^{1,2}

¹ Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*e-mail: sguselnikov@mcb.nsc.ru

Ключевые слова: 10FnIII, аднектин, фаговый дисплей, PSMA, PSCA, CEA, VEGFR-2

Мотивация и цели: Адресная иммунотерапия с использованием антител против онкомаркеров – один из наиболее быстро развивающихся сегментов медицинской биотехнологии. Целью данного проекта является получение панели F_n3-белков, специфично распознающих маркеры эпителия простаты PSMA и PSCA, и использование этих аналогов антител для конструирования биспецифичных (выявляющих оба антигена) средств диагностики и иммунотерапии рака простаты. Для достижения максимальной эффективности мы также поставили задачу определить оптимальную архитектуру для конструируемых иммунотерапевтических молекул, изменяя в них порядок и количество F_n3 доменов.

Методы и алгоритмы: В работе использовали стандартные методы клонирования ДНК, экспрессии белков в про- и эукариотических системах, гель-фильтрации и аффинной очистки белков. Скрининг диверсифицированной библиотеки на основе 10FnIII человека (F_n3) проводили с помощью фагового дисплея. Характеристики белок-белкового взаимодействия определяли с помощью поверхностного плазмонного резонанса (SPR) на приборе ProteOn XPR36 (BioRad).

Результаты: Для получения белковых агентов, специфически связывающих заданную цель, с помощью триплетного синтеза мы получили фаговую F_n3-библиотеку с рандомизованными участками, кодирующими петли. Полученная библиотека ПЦР-фрагментов была клонирована в фагмидный вектор, с помощью крупномасштабной электропорации переведена в бактериальную форму и затем амплифицирована в форме фага. Мы провели селекцию F_n3-фагов на PSCA и PSMA-мишенях и получили несколько кандидатных клонов, детальный анализ которых проводится в настоящее время. Параллельно с проведением фагового дисплея проводили поиск оптимальной архитектуры для биспецифичной F_n3 молекулы с использованием ранее полученных и опубликованных F_n3, связывающих CEA и VEGFR-2 рецепторы человека. Для определения влияния положения F_n3 домена в молекуле проводили SPR-анализ взаимодействия однодоменных и двудоменных F_n3 молекул различной архитектуры с рекомбинантным CEA белком.

Выводы: Нами было показано, что биспецифичные F_n3 молекулы связывают CEA менее эффективно, чем однодоменная молекула. В дальнейшем мы предполагаем повысить эффективность этого взаимодействия за счет повышения авидности, увеличив количество одинаковых F_n3 доменов в одной молекуле.

Благодарности: Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ № 16-04-009790-а (фаговый дисплей, PSMA/PSCA) и 16-04-01469-а (SPR, CEA/VEGFR-2).

ТРАНСКРИПТОМНЫЙ ПРОФИЛЬ СТАБИЛЬНОЙ АТЕРОСКЛЕРОТИЧЕСКОЙ БЛЯШКИ

Е.В. Шахтшнейдер^{1*}, Д.Е. Иванощук^{1, 2}, Ю.И. Рагино¹, Я.В. Полонская¹,
А.М. Чернявский³, М.И. Воевода^{1, 2}

¹ НИИ терапии и профилактической медицины, Новосибирск, Россия

² ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

³ НИИ патологии кровообращения им. Е.Н. Мешалкина Министерства здравоохранения РФ, Новосибирск, Россия

*e-mail: 2117409@mail.ru

Ключевые слова: атеросклеротические бляшки, транскриптом

Цель исследования: Изучение транскриптомного профиля стабильной атеросклеротической бляшки с использованием технологии высокопроизводительного секвенирования (NGS).

Материалы и методы: Исследование выполнено на образцах атеросклеротических бляшек пациентов 45–65 лет, жителей Западно-Сибирского региона с коронароангиографически документированным коронарным атеросклерозом без острого коронарного синдрома со стабильной стенокардией напряжения II–IV функционального класса. Исследование одобрено локальным Этическим комитетом НИИТПМ. Забор тканей атеросклеротической бляшки проводился в ходе операции при наличии интраоперационных показаний. Выполнено гистологическое исследование типа бляшек. Выделение РНК выполнено набором «Вектор-Бест Экстракция 100» по протоколу фирмы производителя. Примеси геномной ДНК удалены с использованием DNA free kit (Ambion, США). Качество извлеченной РНК контролировалось с помощью системы капиллярного электрофореза Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Tec. Inc., США). Подготовка библиотек для секвенирования проведена с использованием набора Illumina's TruSeq RNA Sample Preparation Kit (Illumina). Профиль экспрессии в тканях бляшек определен на приборе HiSeq 1500 (Illumina, США). Анализ данных секвенирования включает картирование данных на геном человека версии GRCh38 с использованием программы BWA 0.7.12.

Результаты: В пилотном исследовании определены транскрипты генов, экспрессия которых статистически значимо различается между стабильной атеросклеротической бляшкой фиброзного типа и нестабильной атеросклеротической бляшкой дистрофически-некротического типа у пациентов с коронарным атеросклерозом. Подтверждено участие генов SYNPO2 и PLIN2 в атеросклеротическом процессе [1].

Выводы: Результаты исследования послужат основой для дальнейшего изучения молекулярных основ формирования атеросклеротических бляшек.

Список литературы

1. Perisic L., Aldi S., Sun Y. et al. (2016) Gene expression signatures, pathways and networks in carotid atherosclerosis. *J. Intern. Med.* 279:293-308.

ЭКСПРЕССИЯ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК – НОВЫЙ ПОДХОД ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ, ПРОГНОЗА, ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ ПАТОЛОГИЙ ЧЕЛОВЕКА

Л.В. Шуленина^{1*}, В.Ф. Михайлов¹, И.М. Васильева², Г.Д. Засухина²,
Д.В. Салеева¹

¹ Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр им. А.И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Россия

² Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия

*e-mail: shuleniina2010@mail.ru

Ключевые слова: онкологические больные, солидные опухоли, острые лейкозы, лучевые циститы, длинные некодирующие РНК, микроРНК

Мотивация и цели: Важнейшей проблемой генетики является изучение механизмов регуляции активности генов. Длинные некодирующие РНК и микроРНК модулируют экспрессию генов и могут быть полезны для решения таких задач, как борьба с раковыми заболеваниями и повышение устойчивости к стрессовым воздействиям. Создание эффективной молекулярной диагностической платформы на основе некодирующих РНК, определяемых технологией полимеразной цепной реакции (ПЦР), может использоваться для улучшения клинического статуса пациентов. Целью исследования было определение в клетках крови различных микроРНК, длинных некодирующих РНК, а также мРНК генов у пациентов с опухолями предстательной железы, в области головы и шеи, молочной железы, острыми лейкозами, а также у здоровых доноров и в клетках, характеризующихся повышенной радиочувствительностью.

Методы и алгоритмы: Определение уровней экспрессии генов и некодирующих РНК проводили методом ПЦР в реальном времени.

Результаты: Была дана оценка длинных некодирующих РНК (AK29404, NEAT1 и др.) в перевиваемых опухолевых клетках человека и в клетках пациентов с синдромом Дауна (характеризующихся повышенной радиочувствительностью) в сравнении с клетками здоровых доноров. Проведено исследование экспрессии генов, микроРНК и длинных некодирующих РНК, принимающих участие в радиоответе клеток. Были выявлены различия в уровнях экспрессии генов и некодирующих РНК, специфических для разных типов рака, и их ответ на лучевую терапию. Отдельный раздел исследований был посвящен возможности прогнозирования осложнений при лучевой терапии на примере развития цистита при раке предстательной железы. Выявлена ассоциация между развитием лучевого цистита и высокими уровнями экспрессии микроРНК-21, -124 в крови до лучевой терапии. У пациентов без этого вида осложнения после терапии увеличивался уровень микроРНК-181a.

Заключение: Изучение вклада некодирующих РНК в активацию генов представляется перспективным в области развития персонализированной медицины.

ВИРОТЕРАПИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОЙ ГЛИОБЛАСТОМЫ ЧЕЛОВЕКА U87 НА МОДЕЛИ ОРТОТОПИЧЕСКОЙ КСЕНОТРАНСПЛАНТАЦИИ МЫШАМ ЛИНИИ SCID

С.Н. Щелкунов^{1, 2, 3*}, И.А. Разумов¹, И.В. Колосова², А.В. Ромащенко¹, Е.Л. Завьялов¹

¹ *ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

² *Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Кольцово, Новосибирская область, Россия*

³ *Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия*

*e-mail: snshchel@rambler.ru

Ключевые слова: *глиобластома, виротерапия, вирус осповакцины, генетическая инженерия*

Цель: Изучение возможности виротерапии глиобластомы при внутривенном введении рекомбинантного вируса осповакцины (BOV) L1VP-GFP в экспериментальной модели ортотопической ксенотрансплантации клеток глиобластомы человека U87 лабораторным мышам линии SCID.

Методы: Исследование выполнено на самцах и самках мышей линии SCID SPF статуса в возрасте 6–7 недель. Животных содержали в ЦКП «SPF-виварий» ИЦиГ СО РАН однополовыми семейными группами по 2–5 особей в индивидуально вентилируемых клетках (IVC) системы OptiMice (Animal Care Systems) в контролируемых условиях. Суспензию клеток линии U87 глиобластомы человека вводили при помощи шприца Hamilton в подкорковые структуры мозга. Для этого на голове в каудально-краниальном направлении делали надрез кожи 3–4 мм длиной в районе брегмы и через отверстие в черепной коробке вводили 5 мкл суспензии клеток (500 тыс. клеток на одно животное). Эксперименты выполнены с соблюдением принципов гуманности в соответствии с директивой Европейского сообщества (86/609/EEC). Каждому животному на 14-е и 22-е сутки после внутримозгового введения клеток линии U87 внутривенно (в хвостовую вену) вводили по 50 мкл физиологического раствора (группа животных Контроль), препарата BOV L1VP (титр 1.4×10^7 БОЕ/мл; группа L1VP) или BOV L1VP-GFP (титр 1.1×10^7 БОЕ/мл; группа L1VP-GFP). Динамику роста опухолей исследовали с помощью магнитно-резонансной томографии на томографе BioSpec 117/16 USR (Bruker, Германия) – 11.7 Тесла. Сканирование головного мозга животных на томографе проводили два раза: на 23-и и 29-е сутки после введения клеток глиобластомы. Размер опухоли высчитывали с помощью пакета программ Paravision 5.0. **Результаты:** BOV L1VP при выбранной дозе вируса (двукратно по 0.7×10^6 БОЕ) не проявлял онколитических свойств по отношению к глиобластоме при внутривенном введении. Созданный на его основе рекомбинантный BOV L1VP-GFP, дефектный по вирусной тимидинкиназе, в этих условиях (при дозе вируса 0.55×10^6 БОЕ и двукратном введении) показал выраженную онколитическую активность. К 43-м суткам после инъекции клеток глиобластомы все животные контрольной группы и группы L1VP погибли, в то время как в группе L1VP-GFP к этому времени пять мышей из восьми (62.5 %) остались живы.

Заключение: Рекомбинантный вирус L1VP-GFP, дефектный по тимидинкиназе, обладает достоверно большей онколитической способностью по сравнению с исходным вирусом L1VP, и внутривенное введение L1VP-GFP на ранних этапах развития опухолей в головном мозге мышей приводит к лизису опухоли.

Благодарности: Исследование выполнено в рамках госзадания (проект № 0324-2016-0002) и при финансовой поддержке РФФИ (грант № 15-04-01326а).

DEVELOPMENT AND CHARACTERIZATION OF MICROSATELLITE MARKERS FOR TREMATODA *OPISTHORCHIS FELINEUS*, OPISTHORCHIASIS CAUSING AGENT

A.V. Katokhin^{1*}, I.V. Saltykova², T.P. Velavan³

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

² Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

³ Institute of Tropical Medicine, University of Tübingen, Tübingen, Germany

*e-mail: katokhin@bionet.nsc.ru

Key words: *Opisthorchis felineus*, microsatellite loci, polymorphic information content

Motivation and Aim: *Opisthorchis felineus* (*O. felineus*) is a food-borne trematode which causes opisthorchiasis and affects mainly the liver and bile-duct of piscivorous mammals including humans. *O. felineus* is mainly endemic in Western Siberia (Ob and Irtysh river basins) and is also distributed throughout Central and Eastern Europe. The recent conclusion that very low genetic diversity and the lack of pronounced population genetics structure of *O. felineus* can be primarily explained by the rapid range expansion of *O. felineus* after severe bottleneck due to glacial events needs to be explored with more robust molecular genetic approach – with the microsatellite analysis (MSA).

Methods and Algorithms: Partial genomic *O. felineus* DNA libraries were constructed by enrichment methods which yielded microsatellite-containing clones. The cloned inserts were amplified and sequenced. The polymorphism parameters (allele attributes, heterozygosity and PIC estimates) were calculated with programs Cervus v3.0.7 [1].

Results: The clone sequences having SSR motifs were filtered against mitochondrial/bacterial contamination and transposon sequences. The chimeric clones were removed based on results of BLASTn analysis performed at WormBase Parasite server (<http://parasite.wormbase.org>). The utility of 11 different loci as genetic markers was tested using the panel of 18 *O. felineus* individuals originated from 5 populations: West Siberia, Russian European territory, Kazakhstan, Italy, and Germany. Finally the 11 MS loci were chosen for further tests for amplifiability by the primers developed and applicability for population genetic structure reconstruction. The mean PIC value for all loci for all samples analyzed amounted 0.7274. The calculation of genetic polymorphism distribution produced the values 0.283 for index R_{ST} (among populations); 0.641 for R_{IS} (among individuals within each populations); and 0.743 for R_{IT} (among all individuals).

Conclusion: The MS markers developed here are shown to be informative tool for epidemiology and transmission dynamics of *O. felineus* studies and for comprehensive *O. felineus* population genetic studies.

Acknowledgements: This work was supported by DAAD programme #50015559. We are grateful to J.S. Antony, C. De Liberato, and R. Schuster for *O. felineus* specimens.

References

1. Kalinowski et al. (2007) Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Mol. Ecology*. 16:1099-1106.

MOLECULAR GENETIC INVESTIGATIONS OF PERSONALITY TRAITS AND PSYCHOPATHOLOGIES

E.K. Khusnutdinova*, A.V. Kazantseva, R.F. Kanzafarova

Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Centre of RAS, Ufa, Russia

**e-mail: elzakh@mail.ru*

Key words: *genes, personality traits, aggressive and suicidal behavior, depression, mathematical anxiety*

Personality traits are the complex phenotypes influenced by both environmental and genetic factors (account for 40–60 % of the variance) and are assumed to be the endo-phenotypes of psychopathologies. Personality traits are predictors of important life outcomes, including well-being, cognitive performance, academic performance, vocational interests, marital stability and satisfaction, health risk behaviors, and longevity. Difficulties in identifying specific genetic risk factors suggest that genetic influences on these complex traits are likely attributable to many genes, each with a small effect size. However, the limitation of molecular-genetic search of specific genes could be explained by the presence of contradictory results and failure to replicate them by different scientific groups. Uncertain results could be caused by the involvement of small sample size, different questionnaires, population stratification, differences in gender, age, environmental influence during the lifespan, psychiatry status, absence of gene-gene and gene-environment interactions. Thus, assessment of interaction of multiple genes with small effect with socio-demographic factors is necessary in order to exclude the occurrence of false-positive or false-negative results. Differences in traditions, social norms, and religion, as well as differences in allele frequencies in populations might also affect the personality. In the present study we aimed to test the possible interaction between 300 polymorphic loci of 40 genes of neurotransmitter, neurotrophin, neurexin, hypothalamic-pituitary axis and tachykin pathways (GxG) and socio-demographic factors (GxE) (gender, ethnicity, season and order of birth, place of residence, smoking status) on personality traits. We also aimed to observe the best models accounting for the largest proportion of variance in each personality trait. The present study sample was comprised of 1018 healthy individuals aged 16–25 years and included 357 Russians, 549 Tatars and 112 Chuvashes (68 % of women) (mean age $\pm 19.53 \pm 2.24$ years). Collectively, our data highlight an involvement of genes belonging to neurotransmitter, neurotrophin, neurexin, hypothalamic-pituitary axis and tachykin pathways as well as environmental factors in the establishment of healthy personality. The best models accounting for the largest proportion of variance in each personality trait were established.

The genes involved in developing cognitive abilities are considered to be also responsible for the manifestation of mathematical disabilities. Our revealed findings suggest that such socio-demographic factors as order of birth, history of maltreatment, knowledge of languages and sociability modulate the association between *NRXNI*, *CNTNAP2*, *CTNNB1*, *COMT* and *BDNF* genes and differences in mathematical anxiety.

The involvement of three neurobiological systems genes and environmental factors in the pathophysiology of aggressive behavior, suicidal behavior, depression, schizophrenia and GxG models are demonstrated too. Future directions and limitations to genetic studies of personality traits are reported. Today our results can be compared only to an iceberg top. 25000 genes are known and we should study a lot more genes to find the genes which are responsible for traits of character.

NOVEL APPROACH TO FUNCTIONAL SNPs DISCOVERY FROM GENOME-WIDE DATA REVEALS PROMISING VARIANTS FOR COLON CANCER RISK

E.E. Korbolina^{1*}, I.I. Brusentsov¹, L.O. Bryzgalov¹, E.Yu. Leberfarb¹,
A.O. Degtyareva², T.I. Merkulova¹

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

² *Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia*

*e-mail: lungry@bionet.nsc.ru

Keywords: *colorectal cancer; SNPs, allele-specific events, functional variants*

Motivation and Aims: Colorectal cancer (CRC) is a common heterogeneous disease with a sizable hereditary component. However, in the majority of CRC cases, the genetic basis of predisposition remains unexplained. The goal of this study is to describe a comprehensive approach that is based on the available chromatin immunoprecipitation sequencing (ChIP-Seq, ChIA-PET) and transcriptional profiling (RNA-Seq) data to search for regulatory SNPs (rSNPs) in the human genome and to reveal new CRC drivers.

Methods and Algorithms: Our strategy combines the assessment of potential rSNPs by positional (located within genome regulatory elements) and functional (associated with allele-specific binding and expression) criteria followed by an analysis based on the GWAS and MAF datasets. We reinforced the regulatory potential of the identified rSNPs by DeSeq2 analysis in 70 CRC patient cohort available by International Cancer Genome Consortium (ICGC).

Results: We selected 1633 rSNPs that were associated with significant ($p < 0.01$) allele-specific binding and expression, resulting in 30 that exhibited a link with CRC according to the MAF and 27 – with a risk of malignancy in general according to GWAS. These rSNPs influence the expression including the genes encoding potential tumor suppressors and the regulators of cell signaling pathways, as well as regulatory non-coding RNAs; however, the rSNPs from the most represented group affect the expression of genes related to splicing.

Conclusion: These findings strongly suggest that the identified rSNPs might contribute to CRC susceptibility, which indicates that aberrant splicing is one of the key mechanisms for unraveling disease etiopathogenesis. As a whole, our evaluation strategy provides useful inputs for the interpreting how genotypic variation corresponds to phenotypic variation, including diseases.

Acknowledgements: The research was carried out with support of the grant 15-04-05780 from Russian Foundation for Basic Research and State Budget Project 0324-2016-0003.

CELL DEATH PATHWAYS AND AGE-RELATED ALTERATIONS OF THE RETINAL PIGMENT EPITHELIUM AND OF GLIA IN THE RETINA OF OXYS RATS DURING THE DEVELOPMENT OF RETINOPATHY

D.V. Telegina, A.Z. Fursova, N.G. Kolosova, O.S. Kozhevnikova*

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

*e-mail: oidopova@bionet.nsc.ru

Key words: transcriptome, cell death, retina, OXYS rats, AMD

Motivation and Aim: Dry age-related macular degeneration (AMD) is a non-curable retinal neurodegenerative disease, a major cause of irreversible vision loss in elderly. It is known that pathological alterations of retinal pigment epithelium (RPE) cells lead to the death of retinal neurons. However, information on molecular genetic preconditions of the events causing their death (as well as about the cell death pathways) is extremely limited including due to the paucity of animal models; this state of affairs hinders the development of effective treatments of AMD. Senescence-accelerated OXYS rats develop a retinopathy similar to dry AMD in its clinical and morphological manifestations. The main aim of study was to identify the pathways of retinal cell death involved in the retinopathy initiation and progression using RNA-seq transcriptome data and system biology approaches. Also, we evaluated contributions of the age-related alterations of the RPE and state of activation of microglia and macroglia to the retinopathy development in OXYS rats by western-blot analysis and immunohistochemistry.

Methods and Algorithms: Analysis of RNA-seq, Gene Ontology analysis, western-blot analysis and immunohistochemistry.

Results: It was established that the development of clinical signs of retinopathy in OXYS rats is preceded by changes in the expression of genes associated with developmental processes, signal transduction and cell differentiation. Changes in the expression of genes involved in the regulation of apoptosis point to disturbances in the physiological processes of cell death that are needed for tissue homeostasis. Analysis of clusters of genes involved in the realization of various mechanisms of cell death has shown that cell death in the retina of OXYS rats is realized both by apoptosis, and by necrosis and autophagy. We showed that pathological processes in the retina of OXYS rats develop against the background of atrophic changes in RPE cells – a violation of their ability to divide and proliferate, which precedes the manifestation of retinopathy. Its manifestation takes place against the background of phagocytic dysfunction and a decrease in the elimination of dead cells, as indicated by the absence of a characteristic migration of macrophages and microglia into the photoreceptor layer, which may be due to the inferior reaction of the immune system.

Conclusion: Our data suggest that apoptosis is not the main form of the cell death during AMD and insufficient elimination of cell debris due to phagocytic dysfunction and an imbalance in immune and inflammatory responses triggers other mechanisms of cell death. Further studies are needed on the role of other types of cell death (autophagy, necroptosis) in the AMD development.

Acknowledgements: Microscopy was performed in the Microscopy Centre of ICG SB RAS. This study was supported by RFBR (project 15-04-02195).

EVALUATING THE NEUROPROTECTIVE POTENTIAL OF WHEAT GRAIN WITH HIGH ANTHOCYANIN CONTENT IN CORRECTION OF BEHAVIORAL DEFICITS INDUCED BY AMYLOID-BETA NEUROTOXICITY IN MICE

M.V. Tenditnik^{1, 2*}, M.A. Tikhonova^{1, 2}, K.S. Pavlov^{1, 3}, T.G. Amstislavskaya^{1, 2, 3}, E.K. Khlestkina^{2, 3}

¹Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine, Novosibirsk, Russia

²Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

*e-mail M.V.Tenditnik@physiol.ru

Key words: wheat grain, anthocyanins, antioxidants, cognition, mice, amyloid-beta

Motivation and Aim: Oxidative stress is believed to be tightly involved into the pathogenesis of neurodegenerative disorders while treatment with antioxidants may ameliorate their symptoms and progression. Recently, isogenic wheat lines differing in the content of anthocyanins, the natural antioxidants, were produced at the Institute of Cytology and Genetics SB RAS [Gordeeva et al., Euphytica, 2015]. The study was aimed to evaluate the neuroprotective potential of wheat grain with high content of anthocyanins in correction of behavioral deficits induced by amyloid-beta (A β) neurotoxicity in mice using the precise genetic model, isogenic wheat lines.

Methods and Algorithms: Starting from the age of 4 weeks, male mice of C57Bl/6J strain were assigned to one of four types of diet: 1) standard food for laboratory mice and water; 2) standard food and solution of antioxidant concentrate of grape polyphenols "Enoant"; 3) wheat grain of control isogenic line i:S29Pp-AIPp-DIPp3^p and water; 4) wheat grain of isogenic line i:S29Pp-AIPp-DIPp3^p with high content of anthocyanins and water. Five months after, half of the mice in each group were injected with A β 25-35 fragment i.c.v. and behavioral phenotyping of all mice was performed.

Results: Mice in the groups 3 and 4 were characterized by lower food intake and body weight gain compared to the groups 1 and 2. Intact mice from the group 3 receiving the grain of the control isogenic line were hyperactive and had a decrease in the working memory while mice from the group 4 displayed normal values of the parameters as the mice of groups 1 and 2. Mice that received amyloid injections showed deficits in working and short-term spatial memory. The grain diet, regardless of the wheat line, prevented the development of disturbances in working memory but not in short-term spatial memory.

Conclusion: Here we observed the beneficial effect of grain diet with high content of anthocyanins on cognitive function in intact mice while both types of grain diet were effective in the correction of the deficits induced by A β neurotoxicity. The latter finding should be attributed to the neuroprotective effect of a low-calorie diet rather than to high content of anthocyanins in a diet.

Acknowledgements: This work was supported by grant No. 16-14-00086 from the Russian Science Foundation.

TRANSLATIONAL RESEARCH OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* INFECTION LEVELS IN ALVEOLAR MACROPHAGES ISOLATED FROM PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS

E.G. Ufimtseva^{1,2*}, N.I. Ereemeeva², M.A. Kravchenko², D.V. Vakhrusheva², S.N. Skornyakov²

¹ The Research Institute of Biochemistry, Novosibirsk, Russia

² Ural Research Institute for Phthisiopulmonology, Yekaterinburg, Russia

*e-mail: ufim1@ngs.ru

Key words: *M. tuberculosis*, tuberculosis patients, macrophages, ex vivo cell culture

Motivation and Aim: Tuberculosis (TB), with the *M. tuberculosis* (*Mtb*) as the causative agent, remains a serious world health problem [1]. The pathogenesis of TB depends on the intracellular persistence of *Mtb* in host macrophages [2]. Traditional methods using for the study of *Mtb* in the lungs of TB patients do not provide information about the amount and functional state of *Mtb*, especially if *Mtb* are located in alveolar macrophages. We have developed a technique to produce *ex vivo* cultures of cells from the different parts of the resected lung tissues with the aim of a rapid assessment of the level of *Mtb* infection in alveolar macrophages in patients with pulmonary TB.

Methods: Lung tissue samples were obtained after surgery of TB patients. The cells isolated from the lung pieces were placed in RPMI 1640 medium with fetal bovine serum to plastic plates with cover glasses in the bottom and cultured for 16–18 h. Then, the cells on cover glasses were fixed and stained by Ziehl-Nelsen method or with the use of antibodies and other reagents.

Results: The *ex vivo* cultures of cells obtained from the resected lungs of TB patients were largely composed of CD14-positive alveolar macrophages, with or without *Mtb*. Lymphocytes, fibroblasts, neutrophils, and multinucleate Langhans giant cells were observed too. Also, the Nile red-positive foamy alveolar macrophages, with and without *Mtb*, were determined. The proposed technique, but not prolonged bacteriological and histological analyses of resected lung tissue, allowed to determine rapidly (in two days after surgery) the level of infection with *Mtb* in alveolar macrophages and, by the presence or absence of *Mtb* colonies, the functional status of the TB agent at the time of surgery.

Conclusion: The number of *Mtb*-infected alveolar macrophages in the *ex vivo* cell cultures can be used as a new biomarker of predictive value for assessing the efficiency of anti-TB chemotherapy, for considering a personalized revision of treatment regimens and for making predictions as to how TB infection will proceed in each TB patient.

Availability: Data and materials are available through the authors.

Acknowledgements: The authors are thankful to Dr. S.I. Baiborodin and T.E. Aleshina of the Shared Center for Microscopic Analysis of Biological Objects of the Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, for technical support.

References

1. World Health Organization. Global tuberculosis report 2014. Geneva, Switzerland.
2. Guirado E. et al. (2013) Macrophages in tuberculosis: friend or foe. *Seminar in Immunopathology*. 35:563-583.

THEORETICAL ANALYSIS OF THE NETWORK INTEGRATING HUMAN GENES INVOLVED IN RESPONSE TO TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS INFECTION

N.S. Yudin^{1,2*}, A.V. Igoshin¹, E.V. Ignatieva^{1,2}

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

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

*e-mail: yudin@bionet.nsc.ru

Key words: Tick-borne encephalitis virus, PPI network, gene prioritization

Motivation and Aim: Tick-borne encephalitis virus (TBEV) is a member of the genus *Flavivirus*. In humans, infections by TBEV may result in encephalitis, meningitis and haemorrhagic fevers with high mortality rates. At present, very little is known about genetic factors predisposing to diseases caused by TBEV. The aim of the study was to investigate the genetic basis of virus-host interactions basing on theoretical analysis of the network involving TBEV RNA or proteins and proteins of the host cell.

Results: Using PubMed, we created a catalog comprising 35 genes involved in response to TBEV infection. Among them, 17 genes (Sublist A) encoded proteins involved in direct physical interactions with the TBEV proteins or RNA. Eleven proteins (Sublist B) participated in nonspecific response to viral infection (unfolded protein response pathway, etc.). Seven genes/proteins (Sublist C) had allelic variants associated with severe forms of the diseases caused by TBEV. Data on protein-protein interactions (PPIs) between 35 proteins/genes from catalog and 50 additional proteins (Sublist D) were obtained from STRING (<http://string-db.org/>) and uploaded into Cytoscape [1]. Data from scientific publications were also uploaded into Cytoscape: (1) interactions between viral proteins or RNA and host proteins; (2) PPIs between proteins within nonspecific response pathways. We obtained network involving 96 nodes and 719 edges. Using MCODE tool [2] we revealed one extremely dense cluster formed by 35 nodes. Majority of nodes (30 out of 35 nodes) were ribosomal proteins and one of them was RPSA (ribosomal protein SA), which had direct PPI with viral E protein. RPSA is also known as laminin binding protein (LBP), functioning as a cell receptor for TBEV. Genes from Sublists A, B, C, and D were ranked according to the number of neighbors in the network. The top proteins were: RPSA (for Sublist A), ATF6 (for Sublist B), OAS2 (for Sublist C), and UBC (for Sublist D).

Conclusion: Analysis of the human PPI network involved in response to TBEV infection revealed extremely dense cluster formed by ribosomal proteins and identified proteins with maximal number of neighborhoods (RPSA, ATF6, OAS2, UBC). Genetic variants in genes encoding these proteins may predispose to severe forms of the diseases caused by TBEV.

Acknowledgements: This work was supported by the Russian Science Foundation (project no. 16-15-00127).

References

1. Smoot M.E. et al. (2011) Cytoscape 2.8: new features for data integration and network visualization. *Bioinformatics*. 27:431-2.
2. Bader G.D., Hogue C.W. (2003) An automated method for finding molecular complexes in large protein interaction networks. *BMC Bioinformatics*. 4:2.

Секция

БИОИНФОРМАТИКА

Session

BIOINFORMATICS

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ РОЛИ ОПУШЕНИЯ ЛИСТА ПШЕНИЦЫ НА ОСНОВЕ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО ФЕНОТИПИРОВАНИЯ

Д.А. Афонников^{1,2*}, А.В. Дорошков¹, М.А. Генаев¹, А.В. Симонов²,
О.Б. Добровольская¹, С.В. Осипова^{3,4}, А. Бёрнер⁵, Т.А. Пшеничникова¹

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия

⁴ Институт генетики растений и исследования возделываемых культур им. Лейбница, Гатерслебен, Германия

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

Ключевые слова: опушение листа, мягкая пшеница, генетический контроль, высокопроизводительное фенотипирование, ответ растений на засуху

Мотивация и цели: Листья многих видов цветковых растений покрыты трихомами. На примере развития этих эпидермальных выростов в модельных растениях изучаются механизмы дифференцировки клеток и процессы морфогенеза. В то же время трихомы представляют собой важный адаптивный признак, участвующий в защите растений от суровых условий среды, биотических стрессов, в частности листогрызущих вредителей. **Методы:** Нами был разработан метод высокопроизводительного фенотипирования опушения листьев пшеницы на основе анализа изображений сгибов листа [1]. Этот метод оценивает распределение длины и количества трихом на поверхности листа пшеницы. Используя его, мы оценили фенотипический эффект известных генов опушения листа у мягкой пшеницы [2]. Результаты показали, что эти гены отличаются по влиянию на размер трихом и их инициирование на поверхности листа. Модель действия и взаимодействия этих генов была предложена для объяснения генетического контроля длины трихом и их числа.

Результаты: Мы проанализировали разнообразие опушения листьев среди родственных видов и предков мягкой гексаплоидной пшеницы, для того чтобы оценить влияние процессов одомашнивания на изменчивость по этому признаку [3]. Это было сделано на примере изучения количественных характеристик опушения листа у 47 представителей ди-, тетра- и гексаплоидных видов родов *Triticum* и *Aegilops* – доноров отдельных геномов мягкой пшеницы. В результате были описаны основные морфологические типы опушения, унаследованные культурной пшеницей от диких предков, а также типы опушения, которые наблюдаются только у диплоидных или тетраплоидных видов. Чтобы определить влияние засухи на изменение характеристик опушения листьев, были проведены экспериментальные исследования четырех генотипов мягкой пшеницы с различными комбинациями аллельных состояний генов, контролирующих опушение листьев. Результаты этого эксперимента показали, что локусы, ассоциированные с опушением листьев пшеницы, могут быть вовлечены в физиологические реакции ответа растений на условия засухи.

Благодарности: Работа поддержана грантом РНФ 14-14-00734 и бюджетным проектом 0324-2016-0008.

Список литературы

1. Genaev M.A. et al. (2012) Extraction of quantitative characteristics describing wheat leaf pubescence with a novel image-processing technique. *Planta*. 236:1943-1954.
2. Doroshkov A.V. et al. (2016). Interactions between leaf pubescence genes in bread wheat as assessed by high throughput phenotyping. *Euphytica*. 207:491-500.
3. Pshenichnikova T.A. et al. (2016) Diversity of leaf pubescence in bread wheat and relative species. *Genet. Res. Crop. Evol.* DOI 10.1007/s10722-016-0471-3.

ЭВОЛЮЦИОННО УСТОЙЧИВЫЕ СТЕРЕОТИПЫ ПОВЕДЕНИЯ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНЫХ АГЕНТОВ ПРИ УСЛОВИИ НЕПОЛНОТЫ ЗНАНИЙ В МОДЕЛИ ФУРАЖИРОВАНИЯ

В.А. Донских^{1*}, Н.С. Столбов¹, И.И. Титов²

¹ Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

² ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: dumai-spb@mail.ru

Ключевые слова: интеллектуальный агент, многоагентная модель, неполнота знаний

Мотивация и цели: Многоагентные модели используются для изучения различных сложных систем, таких как группы клеток или социальные сети. Нахождение эволюционно устойчивых стереотипов поведения в модели – необходимая предпосылка для понимания основ динамики системы и ее эволюции. В моделируемых сложных системах их элементы всегда существуют в условиях информационного шума и неполноты знаний. Поэтому исследование поведенческих стереотипов в варианте модели, где реализована неполнота знаний, позволяет лучше понять особенности системы.

Методы и алгоритмы: Мы рассматриваем модель, в которой агенты перемещаются в круглой области и сталкиваются друг с другом. Каждый агент обладает запасом энергии, который пополняется, после того как агент последовательно посещает центр и границу области, и тратится на действия и столкновения. Переобучение агента происходит тогда и только тогда, когда истощается его энергия, и реализовано через копирование с ошибками когнитивной системы случайного успешного агента. Когнитивная система агента задана с помощью матрицы отклика и определяет его индивидуальную стратегию.

Результаты: Обнаружено четыре эволюционно устойчивых поведенческих стереотипа, один из которых стабилен, а остальные – метастабильны. Все они охарактеризованы с помощью общих свойств популяций и типовых матриц отклика, для которых найдены активные рецепторы агентов и построено упрощенное представление в виде вычислительных схем. Рассмотрена устойчивость поведенческих стереотипов к изменениям в когнитивной системе. Исследовано влияние неполноты знаний в виде «шума» на особенности стереотипов поведения, их устойчивость и переходы между ними.

Заключение: Создана модель для рассмотрения задач классификации поведенческих стереотипов интеллектуальных агентов, интерпретации поведения агентов и исследования влияния неполноты знаний на это поведение. Представлен подход, позволяющий дать подробную характеристику поведенческим стереотипам интеллектуальных агентов с использованной в работе архитектурой. Обнаружены четыре поведенческих стереотипа, каждому из которых сопоставлен набор активных рецепторов, и показано, что агенты с более эффективным и сложным поведением используют большее количество рецепторов.

Благодарности: Работа поддержана бюджетным проектом ИЦиГ СО РАН (0324-2016-0008).

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ХРОМАТИНА И ОСОБЕННОСТЕЙ НУКЛЕОТИДНОГО КОНТЕКСТА В РАЙОНЕ СВЯЗЫВАНИЯ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ФАКТОРА EIN3 В РЕГУЛЯЦИИ ПЕРВИЧНОГО ОТВЕТА НА ЭТИЛЕН У *ARABIDOPSIS THALIANA*

Е.В. Землянская^{1,2*}, В.Г. Левицкий^{1,2}, Д.Ю. Ощепков¹

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*e-mail: ezemlyanskaya@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: биоинформатика, регуляция транскрипции, TEIL, ETHYLENE-INSENSITIVE3, ChIP-Seq, позиционная весовая матрица, генная онтология

Мотивация и цели: Фитогормон этилен регулирует множество физиологических процессов у растений, активируя транскрипционный фактор EIN3 – важнейший регулятор первичного ответа на этилен [1]. EIN3 контролирует экспрессию генов путем связывания со специфической последовательностью в промоторах генов, однако на реализацию его регуляторной функции могут значительно влиять дополнительные факторы. Мы исследовали возможную роль эпигенетических факторов в функционировании EIN3 посредством биоинформатического анализа публично доступных полногеномных данных *Arabidopsis thaliana*.

Методы: Мы исследовали данные ChIP-Seq по связыванию EIN3 у *A. thaliana* [2]. Классификацию пиков с учетом эпигенетических характеристик хроматина осуществляли на основании полногеномной карты 9 типов хроматина [3].

Результаты: Анализ данных ChIP-Seq показал, что распределение пиков в промоторах генов является бимодальным с максимумами в районах дистального и проксимального промоторов. Используя полногеномную карту 9 типов хроматина, мы классифицировали все пики по эпигенетическому статусу. Пики, относящиеся к дистальному максимуму, оказались ассоциированными со специфическим типом хроматина. Именно относящиеся к этому типу пики ChIP-Seq были значимо ассоциированы с ответом на этилен, а также обогащены последовательностями, узнаваемыми EIN3, по сравнению с пиками других типов.

Заключение: Таким образом, сочетание эпигенетических характеристик хроматина с особенностями нуклеотидного контекста в районе связывания EIN3 может определять различные способы EIN3-зависимой регуляции транскрипции.

Список литературы

1. Merchante C. et al. (2013) Ethylene signaling: simple ligand, complex regulation. *Curr. Opin. Plant Biol.* 16:554-560.
2. Chang K.N. et al. (2013) Temporal transcriptional response to ethylene gas drives growth hormone cross-regulation in *Arabidopsis*. *Elife*. 2:e00675.
3. Sequeira-Mendes J. et al. (2014) The functional topography of the *Arabidopsis* genome is organized in a reduced number of linear motifs of chromatin states. *Plant Cell*. 26:2351-2366.

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ САМООРГАНИЗАЦИИ ПОТОКОВ АУКСИНА В КОРНЕ

Ф.В. Казанцев*, В.В. Миронова

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*e-mail: kazfdr@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: *A. thaliana*, дифференциальные уравнения, MGSmodeller

Мотивация и цели: Гормон ауксин является важнейшим морфогеном в растениях. Он синтезируется в молодых листьях и меристемах растения и транспортируется в корень. В меристеме корня ауксин распределяется, образуя максимум в зоне ниши стволовых клеток (НСК) корня. Этот максимум концентрации является необходимым условием для нормального формирования НСК и ее поддержания в развитии корня. В рамках работы мы исследовали механизмы, приводящие к формированию этого максимума методами математического и компьютерного моделирования [1].

Методы и алгоритмы: Математическая модель была реконструирована в среде MGSmodeller [2] как система обыкновенных дифференциальных уравнений. Численные эксперименты проводились в среде MATLAB.

Результаты: В рамках работы мы исследовали механизм распределения гормона ауксина по клеткам меристемы корня посредством пассивного транспорта и с участием полярного транспорта через белки транспортеры PIN1, PIN2 и PIN3 на двумерной модели корня. Было показано, что характерный экспериментально-наблюдаемый паттерн распределения ауксина в модели формируется, если положить ауксин-зависимый биосинтез всего трех белков транспортеров ауксина PIN1, PIN2 и PIN3. Самоорганизация потоков ауксина и его распределения с максимумом в зоне НСК достигается на моделях с разной длиной корня. Этот результат говорит о фундаментальности исследованных процессов в развитии корня.

Список литературы

1. Mironova et al. (2012) Combined in silico/in vivo analysis of mechanisms providing for root apical meristem self-organization and maintenance. *Ann. Bot.* 110:349-360.
2. Казанцев и др. (2012) Новые возможности системы MGSmodeller. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 16:799-804.

ПРОСТРАНСТВЕННАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ СПОСОБСТВУЕТ ЛОКАЛЬНОМУ ПОДДЕРЖАНИЮ АНТАГОНИСТИЧЕСКИХ ЭВОЛЮЦИОННЫХ СЦЕНАРИЕВ В МОДЕЛЯХ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ

А.И. Клименко*, Ю.Г. Матушкин, С.А. Лашин

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*e-mail: klimenko@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: микробные сообщества, эволюционное моделирование, экологическое моделирование, прокариоты

Мотивация и цели: В микробном сообществе могут существовать две тенденции – к усложнению генома и к упрощению. В зависимости от внешних условий существования организмов, реализуется тот или иной сценарий [1]. При этом обмен генетическим материалом позволяет микроорганизмам быстро приспосабливаться к широкому спектру условий без необходимости включать весь арсенал необходимых для всего спектра ферментов в геном каждого отдельного организма [2]. Целью работы было выяснить, как пространственные градиенты экологических факторов и подвижность микроорганизмов влияют на экологическую структуру складывающихся в процессе моделирования сообществ и на эволюционные сценарии в локальных местообитаниях.

Методы и алгоритмы: В этой работе мы использовали программный комплекс «Гаплоидный эволюционный конструктор 3D» (ГЭК 3D) [3], позволяющий изучить влияние пространственных градиентов субстратов и структурированности одномерной протяженной проточной среды на тренды усложнения и упрощения геномов в прокариотическом сообществе.

Результаты: В пространственно-структурированных средах, характеризующихся наличием субстратных градиентов, возможна пространственная локализация различных эволюционных тенденций в зависимости от близости местообитания к источнику питательных веществ. Показано, что активные миграции в сторону благоприятных условий приводят к снижению видового разнообразия и суммарной биомассы сообщества, что объясняется экспансией высокоинвазивных видов и последующей цепной реакцией снижения числа доступных лицензий.

Заключение и доступность: Контекст взаимосвязей между популяциями и пространственно-гетерогенные локальные экологические условия, к которым происходит адаптация, определяют действие отбора на уровне экосистем, оставляя те трофические конфигурации, которые оказываются наиболее устойчивыми в данных условиях.

Программный комплекс ГЭК 3D доступен для скачивания по адресу: http://evol-constructor.bionet.nsc.ru/?page_id=34

Благодарности: Работа была поддержана грантом РФФИ № 15-07-03879.

Список литературы

1. Kunin V., Ouzounis C.A. (2003) The balance of driving forces during genome evolution in prokaryotes. *Genome Research*. 13(7):1589-1594.
2. Maslov S. et al. (2009) Toolbox model of evolution of prokaryotic metabolic networks and their regulation. *PNAS*. 106(24):9743-9748.
3. Klimenko A.I. et al. (2015) Modeling evolution of spatially distributed bacterial communities: a simulation with the haploid evolutionary constructor. *BMC Evol. Biology*. 15:S3.

ДОСТИЖЕНИЕ ПИКА ПРИСПОСОБЛЕННОСТИ ПРИ СЛОЖНЫХ ЛАНДШАФТАХ В МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВАХ В РАЗЛИЧНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ: РЕЗУЛЬТАТЫ КОМПЬЮТЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

С.А. Лашин*, З.С. Мустафин, Ю.Г. Матушкин, Д.А. Афонников

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

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

Ключевые слова: ландшафт приспособленности, микробное сообщество, моделирование, эволюция, скорость мутирования

Мотивация и цели: Экспрессия большинства фенотипических признаков организма зависит от комбинации аллелей в различных локусах. При моделировании сложных отношений типа генотип–фенотип, а также влияния этих отношений на эволюционные процессы в популяциях, необходимо учитывать такие межлокусные взаимодействия. Зачастую для этого используется метафора «ландшафт приспособленности» [1]. Важным вопросом в исследовании таких моделей является возможность или невозможность перехода в популяции в состояние с более высокой средней приспособленностью (достижение пика на ландшафте), в зависимости от самого ландшафта, в частности от наличия в нем зон низкой приспособленности (ямы и долины на ландшафте), под влиянием генетического дрейфа и фиксации повреждающих мутаций.

Методы и алгоритмы: Проанализированы механизмы преодоления зон пониженной приспособленности при эволюции сообщества микроорганизмов, чья приспособленность зависела от комбинации аллелей двух разных локусов, определяющих эффективность утилизации базового субстрата ферментативным комплексом. Ландшафтная поверхность имела вид «горы, окруженной рвом». Моделирование проводилось с использованием программы ГЭК [2].

Результаты и обсуждение: Мы рассмотрели влияние следующих факторов на достижимость пика приспособленности: скорость мутирования локусов, коэффициент кооперативности формирования ферментативного комплекса, концентрация субстрата в среде обитания и скорость протока. Моделирование показало, что достижимость пика определяется соотношением между глубиной «рва» и скоростью мутирования, причем для каждого ландшафта существует своя оптимальная скорость мутирования и свой оптимальный режим эволюции, который может быть как градуальным, так и сальтационным.

Доступность: ГЭК доступен на сайте (<http://evol-constructor.bionet.nsc.ru>), модельные сценарии – по запросу авторов.

Благодарности: Работа была частично поддержана бюджетным проектом 0324-2016-0008 и грантом РФФИ № 15-07-03879.

Список литературы

1. Whitlock M.C. et al. (1995) Multiple Fitness Peaks and Epistasis. *Annu. Rev. Ecol Syst.* 26:601-629.
2. Lashin S.A. et al. (2014) HEC 2.0: improved simulation of the evolution of prokaryotic communities. *Mathematical Biology & Bioinformatics.* 9:585-596.

ТИП ХРОМАТИНА ВЛИЯЕТ НА НУКЛЕОСОМНУЮ ОРГАНИЗАЦИЮ ДНК В РАЙОНЕ СТАРТА ТРАНСКРИПЦИИ

В.Г. Левицкий*, Ю.М. Мошкин

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: levitsky@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: *широта экспрессии гена, активные и репрессированные домены хроматина, позиционирование нуклеосом, 5'-регуляторный район гена*

Мотивация и цель: К настоящему времени доступны полногеномные карты расположения сайтов формирования нуклеосом (позиции диад нуклеосом), а также данные по уровню транскрипции генов в различных тканях. Однако все еще недостаточно моделей для объяснения связей паттернов расположения нуклеосом в 5'-регуляторном районе гена с экспрессией гена.

Методы и алгоритмы: Мы рассчитали (1) число нуклеосомных диад, картированных в позициях от -300 до +200 относительно сайта старта транскрипции (ССТ) генов дрозофилы (эксперимент MNase-seq [1]); (2) ширину экспрессии (ШЭ) гена как число тканей от 0 до 29, в которых обнаружен уровень транскрипции гена (RPKM) не менее 3 [2]; (3) определили подвыборки активных и репрессированных генов согласно критерию полного попадания района (-300; +200) относительно ССТ гена в домены типа хроматина Aquamarine или остальных типов (Lazurite, Malachite, Ruby) [3]. Тип Aquamarine связан с промоторами активно экспрессирующихся генов. Для оценки статистической значимости зависимостей между экспрессионными характеристиками гена (ШЭ, RPKM) и числом нуклеосом мы применили ранговый коэффициент корреляции Кендалла.

Результаты: Только для выборки активных генов мы показали выраженные отрицательную и положительную корреляцию между (1) числом нуклеосомных диад, картированных в положениях выше и ниже старта транскрипции, и (2) уровнем транскрипции гена (RPKM). Мы подтвердили этот вывод на подвыборках активных и репрессированных генов, ранжированных по ширине экспрессии и по уровню транскрипции.

Заключение: Показан определяющий вклад фактора типа хроматина в формирование паттерна нуклеосомной организации ДНК вокруг стартов транскрипции гена.

Список литературы

1. Chereji R.V. et al. (2016) Genome-wide profiling of nucleosome sensitivity and chromatin accessibility in *Drosophila melanogaster*. *Nucl. Acids Res.* 44:1036-51.
2. Brown J.B. et al. (2014) Diversity and dynamics of the *Drosophila* transcriptome. *Nature*. 512:393-9.
3. Boldyreva L. et al. (2017) Protein and genetic composition of four basic chromatin types in *Drosophila melanogaster* cell lines. *Curr. Genomics*. 18:214-226.

ФАГОВАЯ ИНФЕКЦИЯ ЗАМЕДЛЯЕТ ВИДООБРАЗОВАНИЕ, ВЫЗВАННОЕ ГОРИЗОНТАЛЬНЫМ ПЕРЕНОСОМ И ПОТЕРЕЙ ГЕНОВ МЕТАБОЛИЗМА В МОДЕЛЯХ ПРОСТРАНСТВЕННО ГЕТЕРОГЕННЫХ МИКРОБНЫХ СООБЩЕСТВ

Ю.Г. Матушкин*, А.И. Клименко, Н.А. Колчанов, С.А. Лашин

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

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

Ключевые слова: бактериофаг, микробное сообщество, моделирование, эволюция, видообразование

Мотивация и цели: Одним из факторов, влияющих на эволюцию бактерий, являются их облигатные паразиты – бактериофаги. Известно, что они могут не только способствовать горизонтальному переносу генов между клетками, но и являться фактором движущего отбора [1]. Переключение между лизогенным и литическим режимами приводит к различным типам коэволюции в системах «бактериальное сообщество–фаг» [2]. Целью данной работы является численное исследование влияния умеренной фаговой инфекции на приобретение новых метаболических функций клетками бактериальных популяций.

Методы и алгоритмы: Моделирование проводилось с использованием программы ГЭК [3]. Жизненный цикл умеренного фага в методике ГЭК подчиняется следующим правилам переключения между лизогенным и литическим циклами: в пессимальных условиях вирус встраивается в геном клеток в виде профага, а в оптимальных условиях происходит лизис клеток с образованием новых фаговых частиц.

Результаты и обсуждение: Показано, что в результате умеренной фаговой инфекции происходит резкое падение скорости видообразования, обусловленного горизонтальным переносом и потерей генов, что может быть объяснено тем, что усиленный отбор затрудняет появление новых жизнеспособных популяций, которые могли бы занять потенциальные экологические лицензии. В то же время умеренный фаг играет роль стабилизирующего фактора, подавляющего чрезмерное видообразование и способствующего переходу экосистемы в стационарное в смысле числа видов состояние.

Доступность: ГЭК доступен на сайте (<http://evol-constructor.bionet.nsc.ru>), модельные сценарии – по запросу авторов.

Благодарности: Работа поддержана грантом РФФИ № 15-07-03879 и бюджетным финансированием по государственному заданию (проект № 0324-2016-0008).

Список литературы

1. Koskella B., Brockhurst M.A. (2014) Bacteria-phage coevolution as a driver of ecological and evolutionary processes in microbial communities. *FEMS Microbiology Reviews*. 38(5):916-931.
2. Gomez P. et al. (2014) Population mixing promotes arms race host-parasite coevolution. *Proc. R. Soc. London B: Biol. Sci.* 282(1798):20142297.
3. Klimenko A.I. et al. (2015) Modeling evolution of spatially distributed bacterial communities: a simulation with the haploid evolutionary constructor. *BMC Evol. Biology*. 15:S3.

ORTHOSCAPE: CYTOSCAPE ПРИЛОЖЕНИЕ ДЛЯ АНАЛИЗА ЭВОЛЮЦИОННЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ГЕННЫХ СЕТЕЙ

З.С. Мустафин^{1*}, Д.А. Афонников^{1,2}, К.В. Гунбин¹, Ю.Г. Матушкин^{1,2},
С.А. Лашин^{1,2}

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*e-mail: mustafinzs@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: Cytoscape, ортолог, паралог, генная сеть, эволюция, филогенетика

Мотивация и цели: Существует множество программных комплексов, разработанных для визуализации и анализа сетей взаимодействий биологических объектов. Cytoscape (<http://cytoscape.org/>) является одним из самых сложных и многофункциональных. Cytoscape позволяет пользователям расширять возможности пакета с помощью создания приложений, в которых они могут реализовывать интересующий их функционал. Данные приложения могут быть встроены в Cytoscape с одобрения разработчика. На данный момент реализовано более 100 приложений, однако среди них в подавляющем меньшинстве находятся приложения, направленные на исследование эволюционных особенностей генных сетей и включенных в них генов. Мы разработали собственное приложение – Orthoscape, направленное на осуществление эволюционного анализа генной сети.

Методы и алгоритмы: Мы использовали систему баз данных KEGG (<http://www.kegg.jp/>) для получения генных сетей, гомологов, белковых доменов, нуклеотидных/аминокислотных последовательностей и таксономических групп организмов. Входные сети можно получить с помощью плагинов CyKeggParser (из базы KEGG), GeneMANIA (построить по набору генов) и CyPath2 (в формате BioPAX). С помощью приложения можно устанавливать, являются ли гены сети гомологичными (поиск ортологов/паралогов) друг другу при заданных параметрах идентичности их первичных последовательностей, и объединять гомологичные группы генов в кластеры [1]. С помощью анализа представленности ортологов гена в таксономических группах организмов, а именно поиска последнего общего предка, можно установить предположительный возраст гена, выраженный в виде филума [2]. С помощью анализа нуклеотидных последовательностей, кодирующих ген и его ортологи, можно установить индекс давления естественного отбора путем поиска отношения синонимичных замен к несинонимичным.

Результаты: В качестве результата пользователь получает все необходимые данные в двух видах. 1. Информация о гомологичных кластерах и посчитанных эволюционных индексах заносится в таблицу сети Cytoscape. Пользователь может окрашивать сеть с помощью двух цветовых схем (5-цветовая тепловая карта и сине-красная градиентная схема) и изменять положения узлов с помощью средств компоновки, взяв за основу любую из посчитанных переменных. 2. Создаются html отчеты: а) для каждой сети отдельно; для каждой уникальной пары пороговых значений отбора ортологов создается собственная гистограмма с результатами и рассчитывается итоговая статистика по сети; б) создается общий отчет, в котором собираются графики со сравнением сетей между собой. **Заключение:** Orthoscape позволяет анализировать генные сети и самостоятельные наборы генов и получать информацию о молекулярной эволюции генов, входящих в сеть, а также сети в целом.

Доступность: <http://apps.cytoscape.org/apps/orthoscape>; <https://github.com/ZakharM/Orthoscape>

Благодарности: Исследование поддержано грантом РНФ 14-24-00123.

Список литературы

1. Gabaldón T., Koonin E.V. (2013) Functional and evolutionary implications of gene orthology. *Nat. Rev. Genet.* 14:360-6.
2. Quint M. et al. (2012) A transcriptomic hourglass in plant embryogenesis. *Nature.* 490:98-101.

КАНДИДАТНЫЕ SNP-МАРКЕРЫ ТАТА-БОКСОВ ПРОМОТОРОВ ГЕНОВ ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ РЕПРОДУКТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА

М.П. Пономаренко^{1*}, И.В. Чадаева¹, Д.А. Рассказов¹, Е.Б. Шарыпова¹,
И.А. Драчкова¹, Е.В. Кашина¹, Л.К. Савинкова¹, П.М. Пономаренко²,
Л.В. Осадчук¹, А.В. Осадчук¹

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Детский госпиталь Лос-Анджелеса, Университет Южной Калифорнии, США

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

Ключевые слова: SNP, TBP, TATA-бокс, промотор, ген, репродуктивный потенциал

Мотивация и цель: Стремительный прогресс медицинской науки, уровня технологий, образования и культуры из года в год улучшает качество и продолжительность жизни людей. Современный человек закономерно ставит вопрос: «Как я сам мог бы еще улучшить качество и продолжительность моей жизни и жизни моих близких?»

Методы и алгоритмы: Ответ на этот вопрос в терминах предиктивно-превентивной персонализированной медицины искали с использованием двух Web-сервисов: (i) SNP_TATA_Comparator (beehive.bionet.nsc.ru/cgi-bin/mgs/tatascan/start.pl) для поиска аллелей однонуклеотидного полиморфизма (SNP), изменяющих сродство TATA-связывающего белка (TBP) к TATA-боксам промоторов генов человека и (ii) PubMed для поиска ретроспективных клинических обзоров об изменениях физиологических показателей репродуктивного потенциала у носителей этих аллелей.

Результаты: Всего найден 51 SNP-маркер женского репродуктивного потенциала, способный изменить сродство TBP к промоторам генов. Например, известный rs563763767 [1] и кандидатные rs779755900, rs749456955, rs746842194, rs754815577 (эта работа) SNP-маркеры тромбоза и инфаркта миокарда увеличивают сродство TBP к промотору гена *F3* тромбокиназы человека, что приводит к избытку этого индуктора свертывания крови. У беременных женщин синдром Хьюза провоцирует тромбоз с летальным исходом [2], хотя этот синдром можно диагностировать и устранить даже на самых ранних стадиях его развития [3]. У женщин, несущих такие SNP-маркеры, предварительная профилактика этого синдрома перед планируемой беременностью может уменьшить риск ее летального исхода. Инфаркт миокарда – очень опасное осложнение беременности, риск которого увеличивается с возрастом матери, при многоплодной беременности, гипертонии, преэклампсии, у курящих женщин [4], а также при нерегулярном менструальном цикле, при беременности в возрасте до 20 лет, при наличии в анамнезе многочисленных беременностей [5].

Заключение: В русле геронтологии, связующей воедино репродуктивный потенциал, качество и продолжительность жизни [6], собрана информация для тех, кто хотел бы предотвратить заболевания, соответствующие аллелям их расшифрованных геномов.

Список литературы

1. Arnaud et al. (2000) *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 20:892-8. doi:10.1161/01.atv.20.3.892.
2. Sun et al. (2014) *Int. Med. Case Rep. J.* 7:159-63. doi:10.2147/imcrj.S71321.
3. Hughes. (2010) *Int. J. Clin. Pract.* 64:1183-4. doi:10.1111/j.1742-1241.2010.02340.x.
4. Bush et al. (2011) *Eur. J. Prev. Cardiol.* 20:12-20. doi:10.1177/1741826711432117.
5. La Vecchia et al. (1987) *Am. J. Obstet. Gynecol.* 157:1108-12. PMID:3688065.
6. Bowles. (1998) *Med. Hypotheses.* 51:179-221. doi:10.1016/S0306-9877(98)90079-2.

МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ ПШЕНИЦЫ К ПАТОГЕННЫМ ГРИБАМ

О.Г. Смирнова*, А.В. Кочетов

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: planta@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: пшеница, патогенные грибы, гены устойчивости, генная сеть, база данных

Мотивация и цели: Растения используют конститутивные и индуцированные механизмы защиты в ответ на действие патогенов. У пшеницы идентифицировано несколько десятков генов защитного ответа, некоторые из которых секвенированы. Знание нуклеотидных последовательностей генов устойчивости существенно улучшает понимание молекулярных механизмов регуляции иммунитета. Чтобы систематизировать имеющиеся в научных публикациях данные и изучить механизмы, лежащие в основе устойчивости к патогенам, мы создали базу данных секвенированных генов устойчивости пшеницы (PRG – Pathogenesis-Related Genes) и реконструировали генную сеть с участием этих генов.

Методы и алгоритмы: Генная сеть построена с использованием технологии Gen-Net, ручного курирования и использования литературных данных. База данных PRG создана на платформе SRS. Объекты генной сети, представленной в формате HTML-страницы, снабжены активными ссылками на учетные записи генов в созданной нами базе данных PRG.

Результаты: База PRG содержит нуклеотидные последовательности аллельных вариантов генов, обеспечивающих разный уровень устойчивости к заболеваниям, вызванным грибными патогенами. В базе представлена информация о продукте гена и его функциях, изменении экспрессии в ответ на действие патогенов, гормонов и условий окружающей среды, хромосомной локализации гена устойчивости. Приводятся данные о патогене, заболевании и ссылки на сопутствующие базы данных GenBank и UNIPROT. База PRG снабжена системой поиска, позволяющей находить нужные гены и их нуклеотидные последовательности по специальным запросам. В генной сети представлены взаимодействия генов, белков и регуляторных молекул, приводящие к формированию защитной реакции растений в ответ на действие патогенных грибов. Молекулярные механизмы, обеспечивающие функционирование генной сети, связаны с изменением скорости транскрипции, стабильности РНК, транспорта глюкозы. Важную роль играют сигнальные молекулы, такие как салициловая кислота, активные формы кислорода, глюкоза и глицерол-3-фосфат. Наряду с позитивными регуляторами, в генной сети присутствуют и негативные регуляторы, действие которых направлено на стабилизацию процесса.

Заключение и доступность: База PRG и генная сеть позволяют систематизировать и визуализировать накопленные данные, выделить регуляторные молекулы и процессы, связанные с устойчивостью. Генная сеть расположена по адресу <http://www.mgs.bionet.nsc.ru/mgs/gnw/genenet/viewer/Plant%20fungus%20pathogen.html>. База PRG расположена по адресу <http://srs6.bionet.nsc.ru/srs6bin/cgi-bin/wgetz?-page+top+-newId>.

СЛОЖНАЯ ДИНАМИКА ЛОКАЛЬНОЙ ТРАНСЛЯЦИИ В СИНАПСЕ: МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ

Е.А. Трифонова^{1*}, Т.М. Хлебодарова¹, В.В. Когай^{2,3}, В.А. Лихошвай^{1,3}

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Институт математики СО РАН, Новосибирск, Россия

³ Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

*e-mail: et@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: глутаматергические синапсы, mTOR сигнальный путь, расстройства аутистического спектра, моделирование, дифференциальные уравнения, запаздывающие аргументы, хаос, осцилляции, множественные аттракторы

Мотивация и цели: Центральным регулятором локальной трансляции в синапсе является сигнальный путь mTOR, компоненты которого известны как генетические маркеры таких нейropsychических заболеваний, как аутизм и эпилепсия. Сложность механизмов регуляции локальной трансляции в синапсе позволяет предположить наличие тонких взаимоотношений между компонентами этой системы, определяющих эффективность трансляции дендритной мРНК в ответ на стимуляцию mGluR рецепторов. Ключевым игроком в этой системе является РНК-связывающий белок FMRP, который в фосфорилированном состоянии блокирует трансляцию, а в дефосфорилированном – активирует. Фосфорилирование зависит от S6 киназы, а дефосфорилирование – от PP2A фосфатазы, которые активируются в ответ на стимуляцию mGluR рецепторов через разные сигнальные каскады и с разной скоростью. Динамические аспекты функционирования этой системы практически не исследованы.

Методы и алгоритмы: Для анализа использованы методы математического моделирования и *in silico* эксперимента.

Результаты: Разработана математическая модель FMRP-зависимой регуляции синтеза белков рецепторного комплекса на постсинаптической мембране глутаматергических синапсов в ответ на стимуляцию mGluR рецепторов и исследованы режимы ее динамического поведения *in silico* в зависимости от параметров активации и блокирования процесса трансляции, времени экспонирования *de novo* синтезированного рецепторного белка на мембране, а также сложности механизмов регуляции трансляции через сигнальный путь mTOR. Модель предсказывает возможность возникновения колебательной, хаотической и даже гиперхаотической динамики синтеза постсинаптических белков, а также множественных аттракторов в физиологической области функционирования системы локальной трансляции в активированном синапсе. Модель также предсказывает, что чем выше сложность механизмов супрессии FMRP-зависимой трансляции и нелинейность процессов передачи сигнала через mTOR, тем больше вероятность возникновения хаотической динамики.

Заключение: Полученные результаты позволяют предположить, что в основе аутизма, связанного с гиперактивацией mTOR, лежат динамические нарушения режимов синтеза постсинаптических белков в ответ на стимуляцию mGluR рецепторов на постсинаптической мембране возбуждающих синапсов.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ БЕЛКОВ СЕМЕЙСТВА YUCCA

И.И. Турнаев*, В.В. Суслов, К.В. Гунбин, Д.А. Афонников

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

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

Ключевые слова: белки Yucca, флавин монооксигеназы, молекулярная эволюция

Цель и мотивация: Цель нашего исследования – происхождение и эволюция белков семейства YUCCA.

Методы и алгоритмы: Гомологичные последовательности белков YUCCA *A. thaliana* были идентифицированы с использованием программ BLASTP и DELTA-BLAST в NCBI. Выравнивание последовательности белков реконструировано в Promals. Трехмерные структуры белков реконструированы в I-TASSER 4.4. После чего были использованы различные инструменты для уточнения структуры белков (FG-MD, ModRefiner, i3Drefine, GalaxyRefine). Идентификация границ белковых доменов проводилась с учетом трехмерных структур белков; для этой цели мы использовали систему ThreaDom.

Результаты и заключение: Анализ филогенетического дерева растительных и нерастительных гомологов YUCCA выявил три группы белков, которые отличаются друг от друга по функциональным сайтам, при этом сохраняют домены и трехмерную структуру: (i) белки FMO (включая белки YUCCA), почти все они содержат в сайте FMO мотив FxGxxxHxxxY/F, 3 структурных домена (SD) и короткую высокогидрофобную внутреннюю петлю в центральном домене белка, плотно закрывающую его активный центр; (ii) Baeyer–Villiger монооксигеназы, все они содержат мотив FxGxxxHxxxW, 3 SD и длинную гибкую высокогидрофильную внутреннюю петлю в центральном домене, находящуюся вблизи активного центра; (iii) группа белков, характеризующаяся преобладанием мотива FxGxxxHxxxH и 4 SD. Семейства белков i и ii уже описаны в [1], Семейство белков iii – с FMO мотивом FxGxxxHxxxH не описано в литературе. Наши результаты показывают, что эти три группы белков имеют различные ферментативные функции. Поэтому белки ii и iii групп последовательностей можно рассматривать как не относящиеся к суперсемейству FMO/YUCCA, и они должны быть исключены из дальнейшего анализа. Мы определили, что ближайшими гомологами белков YUCCA являются YUC-подобные белки почвенных бактерий (многие из них – симбионты высших растений) и белки цианобактерий. Анализ трехмерных структур белков YUCCA (YUCCA1, 2, 4-6, 10 *A. thaliana*) выявил три района: N-концевой (1-141 ак., позиции у YUCCA10 *A. thaliana*), центральный (142-311 aa) и C-концевой (312-383 aa). Белки YUCCA образуют двухсубъединичную структуру: первая субъединица состоит из центрального района белка, вторая же состоит из комбинации между его N- и C-концевыми районами. Филогенетический анализ последовательностей, проведенный для каждого из трех районов белка, показал, что топология филогенетических деревьев для них различна. Топология филогенетического дерева центрального района YUCCA соответствует стандартной филогении видов растений (в отличие от топологии дерева всего белка). Однако топология деревьев как N-концевого, так и C-концевого районов YUCCA отличается от филогении видов растений. Следовательно, различие между топологиями филогенетических деревьев трех районов белка YUCCA может быть обусловлено либо различиями в эволюционных режимах (например, ускорение или стабилизация эволюции), либо наличием горизонтального переноса фрагментов ДНК, в соответствующий район белка.

Благодарности: Поддержано бюджетным финансированием по госзаданию (проект № 0324-2016-0008).

Список литературы

1. Riebel A. et al. (2013) *J. Mol. Catal. B Enzym.* 88:20-25.

ALTERNATIVE SPLICING, ISOFORMS AND ROLE OF GRIN1 GENE EXPRESSION IN BEHAVIOR OF RATS SELECTED BY AGGRESSIVE BEHAVIOR

V.N. Babenko^{1*}, I.V. Chadaeva^{1,2*}, A.O. Bragin¹, Y.L. Orlov¹, A.L. Markel^{1,2}

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

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

*e-mail: bob@bionet.nsc.ru

ichadaeva@bionet.nsc.ru

Key words: *alternative splicing, glutamate receptor, NMDA, aggressive behavior, RNA profiling, rat*

Motivation and Aim: The Grin1 gene encodes the NMDA receptor subunit, which is known to perform a regulatory function in the neurotransmitter and metabolic processes in neurons: it determines neuronal excitability, synaptic plasticity, participates in the organism response to stress and in the pathogenesis of a number of neuropsychiatric diseases, also it plays a key role in regulating long-time changes in synaptic activity [1]. The aim of our work was to identify differences in the expression of the Grin1 gene and its isoforms as a result of the alternative splicing process in rats selected by aggressive behavior [2].

Methods and Algorithms: As a result of RNA-sequencing, data were obtained on the gene expression in brain of rats selected for aggressive behavior [3]. Genes were examined where the differences in the expression (FPKM) values of replicas of a particular brain region did not exceed the standard deviation of expression (FPKM) calculated for all samples. The identification of alternative splicing for the considered RNA-sequencing data was performed using the rMATS program.

Results: A detailed analysis of the Grin1 gene isoforms was performed, the distribution of which is significantly different between aggressive and tame rats. It was shown that the hypothalamus is characterized by the absence, as a result of alternative splicing, of Grin1 exon 5. The variants of other exons combinations, – E21 and E22, behave in a distinguishable way. Thus, the shortest isoform is predominantly expressed in the hypothalamus of aggressive individuals, while the major isoform of the tame rats corresponds to the sample from the mesencephalic tegmentum. Analysis of the expression profiles of the Grin1 isoforms shows that the major isoform is most expressed in the hypothalamus of the aggressive rats, which is the shortest transcript and also the E22 short variant. In tame rats, this isoform was expressed on average for the entire sample, while expression of the isoform with the included E21 was increased.

Conclusion: We suppose that the observed difference in the Grin1 expression in aggressive and tame rats can partially determine the corresponding specific behavior. This is consistent with the literature data that the neurons depolarization of the hypothalamus of aggressive rats occurs more intensively than in tame rats.

Acknowledgements: Supported by ICG SB RAS budget project 0324-2016-0008.

References

1. Li F. et al. (2009) Memory and the NMDA Receptors. *N. Engl. J. Med.* 361(3):302-3.
2. Plyusnina I.Z. et al. (1997) Selection vector and ontogenetic development of behavior under domestication of wild Norway rats. *Genetika.* 33(8):1149-54.
3. Babenko V.N. et al. (2016) Analysis of differential gene expression by RNA-seq data in brain areas of laboratory animals. *J. Integrative Bioinformatics.* 13(4):292.

SOFTWARE FOR VISUALIZATION AND ANALYSIS OF CHROMOSOME-SPECIFIC DNA SEQUENCES FOR FISH DIAGNOSTICS

A.G. Bogomolov^{1,2*}, A.M. Spitsina², N.L. Podkolodnyy¹, N.B. Rubtsov^{1,2}

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

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

*e-mail: mantis_anton@bionet.nsc.ru

Key words: *fluorescence in situ hybridization (FISH), chromosome analysis, image analysis*

Motivation and Aim: The causes of many hereditary and congenital diseases are chromosome abnormalities. One way to detect these changes is the method of FISH with chromosome-derived DNA probes. The problem of its usage is associated with a large number of repeated sequences in chromosomes. This paper presents software for visualization and analysis of chromosome-specific DNA sequences in metaphase chromosomes, which helps to solve this problem without suppression of repetitive DNA hybridization. **Methods and Algorithms:** The software uses the previously developed VISSIS (visualization specific signal *in silico*) method [1]. This method was significantly improved. Some steps of image processing have become semi-automated: segmentation of chromosomes (method of watershed and methods based on average difference filter were used), detection and rejection of interphase nuclei and stain debris.

The following additional procedures were applied: automate filtration of DAPI channel (median filter), new procedure of normalization intensity of signals, separate detection and processing of bright regions in the image (bright objects are detected using threshold methods). The ratio of mean signal intensities in the point belonging to the medial-axis of the objects was used as a new feature for classification of chromosomes.

Results: The ViSS software for visualization and analysis of chromosome-specific DNA sequences by FISH with microdissected DNA probes on metaphase chromosomes was developed. It was tested on early-obtained microscopic images. Image processing becomes less time consuming due to the developed user-friendly interface and the improvements of the method. The obtained results showed that the accuracy of the chromosome's classification increased in comparison with the previous version of the method.

Acknowledgements: This study was supported by RFBR grant No. 16-34-00498 mol_a.

References

1. Bogomolov A.G. et al. (2012) Visualization of chromosome-specific DNA sequences by FISH of microdissection DNA Probes with metaphase Chromosomes. *Rus. J. Genetics*. 2(6):413-420.

THE APPROACH FOR RECONSTRUCTION OF AMYLOID STRUCTURE *IN VIVO*

S.A. Bondarev^{1,2*}, O.I. Poleshuk¹, G.A. Zhouravleva^{1,2}, A.V. Kajava^{3,4}

¹ Department of Genetics and Biotechnology, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

² Laboratory of Amyloid Biology, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

³ Centre de Recherche en Biologie cellulaire de Montpellier, CNRS, Université Montpellier, Montpellier, France

⁴ Institut de Biologie Computationnelle, Montpellier, France

*e-mail: stanislavspbgu@gmail.com

Key words: prion, three-dimensional structure, amyloid, Sup35, [PSI⁺]

Motivation and Aim: Prions can be defined as infectious or inherited protein agents which propagation is based on the ability to induce conformational conversion of cellular polypeptides. In most cases prion appearance is linked with formation of amyloid aggregates of certain protein. One of the main problem in the investigations of prions and amyloid aggregates is determination of their structural organization especially *in vivo*. The cross- β structure of most amyloids is built of parallel and in-register stacks of structural elements called β -arches consisting of two β -strands connected by a turn. The size of one β -arch can vary between 15–30 residues. At the same time it is known that a number of amyloid-forming regions reach size of up to 80 residues. In the past few years, a number of experimental data have been suggested that these regions form tandems of adjacent β -arches, called β -serpentine which, in turn, stack to form the superpleated β -structure.

Methods and Algorithms: Recently, a computer program “BetaSerpentine” has been developed that analyzes protein sequence and predicts structural arrangements of adjacent β -arches, called β -serpentine, and ranks them in order of preference. At the same time we performed precise mutational analysis of SUP35 to determine the protein region forming amyloid fibril for different [PSI⁺] variants.

Results: By using BetaSerpentine together we reconstructed potential β -serpentine of investigated [PSI⁺] variants. For this purpose, we used the intersection of our *in silico* prediction with the experimental data of mutational analysis of Sup35 protein. As a result, the number of the predicted structures was reduced for specific prion variants. Our conclusions are based on data obtained *in vivo*, therefore, the anticipated amyloid structures may be presented in living cells.

Conclusion: The BetaSerpentine program in combination with the experimental data can be used to gain insight into the detailed 3D structure of amyloids. In case of mutational analysis it may allow to predict structure of amyloid aggregates within living cells.

Acknowledgements: The authors acknowledge St. Petersburg State University for research grants, 15.61.2218.2013 and 1.37.291.2015, Russian Foundation of Basic Research for a research grant 17-54-150002.

COMPUTER ANALYSIS OF ASSOCIATION OF SEROTONIN AND DOPAMINE WITH AGGRESSION AND TAMENESS IN RAT

A.O. Bragin*, A.L. Markel, Y.L. Orlov

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

**e-mail: ibragin@bionet.nsc.ru*

Key words: *aggressive behavior, RNA-seq, serotonin, dopamine*

Motivation and Aim: One of the most urgent problems of the human society is human aggression. According the United Nations data, number of homicides remains high even in the developed countries. It is known, that aggressive behavior is mediated not only by social factors but also by genetic factors. That is why, analysis of expression of genes – involved in regulation of aggressive behavior – remains important task. There are two rat lines, with tame and aggressive behavior, selected in IC&G SB RAS, which can be used for such analysis of genetic basis of aggression.

Methods and Algorithms: In this work, we assessed expression level of genes – involved in regulation of work of serotonin and dopamine. We have analyzed ventral tegmental brain (VTA) area of rats. We have compared expression level of genes of the aggressive rat line with expression level of genes of the tame rat line.

Results: We have assessed gene expression level of VTA of rats using RNA-seq technique. We found significant differences of expression of several genes: Th, Ddc, dopamine transporter, Tph2, serotonin transporter. We also found that some dopamine and serotonin receptors were differently expressed between tame and aggressive rats.

Acknowledgements: The authors acknowledge RSF (for AOB) and ICG SB RAS budget project (0324-2016-0008) (ALM and YLO).

GENE EXPRESSION ANALYSIS OF EGR1, GRIA2, MAPK1, BY QPCR IN BRAIN AREAS OF RATS SELECTED BY AGGRESSIVE BEHAVIOR

I.V. Chadaeva^{1,2*}, N.V. Klimova¹, A.L. Markel^{1,2}, G.V. Vasiliev¹

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

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

*e-mail: ichadaeva@bionet.nsc.ru

Key words: gene expression, *Egr1*, *Gria2*, *Mapk1*, aggressiveness, qPCR analysis, rat

Motivation and Aim: The study of molecular genetic mechanisms of increased aggressiveness in model laboratory animals is a fundamental biological problem [1, 2]. The modern technologies of high-throughput DNA sequencing and analysis of differential gene expression in brain allows to identify genes associated with aggressive behavior [2, 3]. We analyzed the qPCR data on the genes *Egr1* (early growth response 1), *Gria2* (glutamate receptor, ionotropic), *Mapk1* (mitogen activated protein kinase 1) expression in various brain areas of rats selected by aggressive behavior [4, 5].

Methods and Algorithms: qPCR analysis of gene expression was carried out on brain areas for two lines of rats selected by aggressive and tame behavior for 80 generations. The experiments were performed on male gray rats, which had been selected by aggressiveness (“aggressive” $n = 3$) and tameness (“tame” $n = 3$). Tissue samples from several brain areas previously known as associated with behavior in rats were used.

Results: Based on the results of the qPCR analysis, the expression level of the *Egr1*, *Gria2*, and *Mapk1* genes in the brain regions of aggressive and tame rats were compares. Significantly higher expression of the studied genes in the hypothalamus ($p < 0.05$) was found out in the aggressive line rats. Molecular genetic mechanisms of increased aggressiveness in rats with hereditarily fixed behavior type (aggressive and tame) are discussed on the basis of data on the hypothalamus genes expression.

Conclusion: We showed on an independent biological sample that in rats selected by aggressiveness, the levels of gene expression in the hypothalamus are significantly higher, which indicates a genetic determinant of aggressive behavior [3]. However, further verification of the differential gene expression of the tame and aggressive rats in other parts of the brain is necessary.

Acknowledgements: Supported by ICG SB RAS budget project 0324-2016-0008.

References

1. Anholt R.R., Mackay T.F. (2012) Genetics of aggression. *Annu. Rev. Genet.* 46:145-64.
2. Kudryavtseva N.N., Markel A.L., Orlov Y.L. (2015) Aggressive behavior: Genetic and physiological mechanisms. *Rus. J. Genetics: Appl. Res.* 5(4):413-429.
3. Babenko V.N. et al. (2016) Analysis of differential gene expression by RNA-seq data in brain areas of laboratory animals. *J. Integrative Bioinformatics.* 13(4):292.
4. Dürr K.L. et al. (2014) Structure and dynamics of AMPA receptor GluA2 in resting, pre-open, and desensitized states. *Cell.* 158(4):778-92.
5. Chakraborty T. et al. (2016) Variants of contextual fear conditioning induce differential patterns of *Egr-1* activity within the young adult prefrontal cortex. *Behav. Brain Res.* 302:122-30.

PROGRAM TOOLS FOR ANALYSIS OF HIGH-THROUGHPUT GENOME SEQUENCING DATA

A.I. Dergilev¹, A.V. Tsukanov^{2,3}, A.I. Efimov¹, A.O. Bragin², F.M. Naumenko¹, Y.L. Orlov^{1,2*}

¹ Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

² Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

³ Perm National Research Polytechnic University, Perm, Russia

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

Key words: computer genomics, sequencing, program complex, data integration

Motivation and Aim: Analysis of high-throughput sequencing experiments raise new challenges for modern bioinformatics [1]. The program complex ICGenomics has been designed for storage, mining, and analysis of growing sequencing data [1]. New tools, such as ExpGene were developed for gene expression analysis recently [2]. Novel methods for the processing of high-throughput sequencing data include ChIP-seq analysis; functional annotation of gene regulatory regions in nucleotide sequences; prediction of nucleosome positioning; structural and functional annotation of proteins, including prediction of their allergenicity parameters, as well as estimates of evolution changes based on protein families alignment. Such bioinformatics tools are important for solution of fundamental medicine and biotechnology problems.

Methods and Algorithms: We developed set of computer programs and have integrated them earlier in program complex ICGenomics. It implements standard methods for processing, analyzing, and visualizing sequencing data and functional annotation of genome regions. New programs for gene expression analysis, analysis of transcription factor binding sites, genome 3D structure and analysis of antisense transcript location in the genome have to be integrated into the program complex [2].

Results: The program complex allows to fulfill the following distinct functions: processing of extended nucleotide sequences from next generation sequencing data including; annotation of genomic sequences including exon search, and prediction of miRNA gene promoters using specific nucleotide structure motifs; prediction of protein allergenicity by their structural and functional properties using functional annotation; research of evolution modes of protein coding genes. We work now on applications to 3D genome structure analysis [3].

Conclusion: The components are realized in the form of the data processing pipe-line flexible for new updates. The development of the system includes ChIP-seq analysis and gene expression software [1].

Availability: The system is available at <http://www-bionet.ssc.ru/icgenomics>.

Acknowledgements: Authors acknowledge ICG SB RAS budget project (0324-2016-0008) and RFBR (16-54-53064).

References

1. Orlov Y.L. et al. (2012) ICGenomics: program complex for symbol sequence analysis in genomics. *Vavilov J. Genetics Breeding*. 16(4/1):732-741. (in Russian)
2. Spitsina A.M. et al. (2017) Computer tools for analysis of transcriptomics data: program complex ExpGene. *Program Systems: Theory and Applications*. 8:2(33):45-68. (in Russian)
3. Grinchuk O.V. et al. (2010) Integrative analysis of the human cis-antisense gene pairs, miRNAs and their transcription regulation patterns. *Nucl. Acids Res*. 38(2):534-47.

RANKING GENES ASSOCIATED WITH ELEVATED BODY MASS USING PROTEIN-PROTEIN INTERACTION NETWORK UNITING GENES REVEALED BY GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDIES

E.V. Ignatieva*

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

**e-mail: eignat@bionet.nsc.ru*

Key words: *SNP, body weight regulation, PPI network, GWAS, gene prioritization*

Motivation and Aim: Obesity is heritable and predisposes to many diseases. Genome-wide association studies (GWAS) have identified multiple genetic variants that are associated with elevated body mass index. But the question of what significance threshold is appropriate for GWASs is somewhat unresolved. Polygene analyses suggest that SNPs with P values well below genome-wide significance ($P < 5 \times 10^{-8}$) add significantly to the phenotypic variance explained [1]. The objectives of this study were: (1) to compile an extended catalog of human genes controlling feeding behavior and body weight, incorporating additional new GWAS loci revealed at significance level of 10^{-5} ; (2) to characterize additional GWAS genes according to their expression characteristics; (3) to construct protein-protein interaction (PPI) network uniting genes/proteins from the catalog; (4) to prioritize additional GWAS genes according to their degree in the PPI network.

Results: We created an extended catalog comprising 762 human genes controlling body weight basing on two data sources: (1) a compendium of 578 human genes involved in body weight regulation (Sublist A) presented in our recent research [2]; (2) additional 184 GWAS genes (Sublist B) revealed in [1] at a less stringent significance level of 10^{-5} . Using data from the Human Protein Atlas (<http://www.proteinatlas.org/about/download>) we examined the expression characteristics of genes from Sublist B and revealed that this group is enriched in *Tissue enhanced* expression category and depleted in *Expressed in all* expression category. Using STRING and Cytoscape, we constructed PPI network formed by genes/proteins from the catalog. We ranked genes from the Sublist B according to the number of neighbors in the network and revealed two top genes/proteins: *YWHAZ* and *MTOR* (19 and 11 neighbors respectively). Both genes were from *Expressed in all* category. According to UniProtKB, *YWHAZ* and *MTOR* encode proteins involved in insulin signaling, a key energy balance signaling pathway.

Conclusion: Basing on PPI network we found two hubs (*YWHAZ* and *MTOR*) among genes revealed by GWAS at a less stringent significance level of 10^{-5} . We propose to keep in mind these genes as potential candidates for investigating the genetic factors predisposing to elevated body weight.

Acknowledgements: ICG SB RAS budget project 0324-2016-0008.

References

1. Ignatieva E.V. et al. (2016) A compendium of human genes regulating feeding behavior and body weight, its functional characterization and identification of GWAS genes involved in brain-specific PPI network. *BMC Genet.* 17(Suppl.3):158.
2. Locke A.E. et al. (2015) Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology. *Nature.* 518:197-206.

ANALYSIS OF GENE EXPRESSION VARIATION IN SCHIZOPHRENIA: A STRUCTURAL EQUATION APPROACH

A.A. Igolkina*, S.V. Nuzhdin, M.G. Samsonova

Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, Russia

*e-mail: igolkinaanna11@gmail.com

Key words: schizophrenia, structural equation modelling, SEM, variation analysis, pathway analysis

Motivation and Aim: Nowadays, most of the human diseases are shown to be associated with numerous genetic markers (SNPs and SNVs) and the schizophrenia is one of them. This complex polygenic nature indicates that the schizophrenia is probably “a pathway disease”, when not distinct genes are altered in pathways but rather the pathways themselves. In terms of gene expression, this assumption means that the schizophrenia causes do not lie in differences between means of gene expression levels, but in a difference between variances and covariances.

Methods and Results: We developed the pathway approach of gene variation analysis that consisted of two successive steps: (1) sign test for increased variation in pathways and (2) structural equation modelling of variance-covariance within pathways. We applied this approach to the schizophrenia study (144 cases and 111 controls) and four signalling pathways of interest: MAPK, mTOR, Focal adhesion and WNT. Significantly increased gene expression variation in the group of schizophrenia patients was found only for one pathway: MAPK signalling. Within this pathway, two gene-gene interactions were significantly different between the schizophrenia and the control groups and were the nearest downstream targets of DISC1 gene: SOS1HRAS (p -value < 0.001) and BRAFMAP2K2 (p -value < 0.01). We estimated the case/control differences within remained three pathways and also found alterations biologically relevant under schizophrenia.

Conclusion: We considered the found altered interactions as candidate hotspots of schizophrenia development. The developed method can be applied to other pathway diseases to reveal its causes in shifts of gene expression variance-covariance patterns.

MOLECULAR EVOLUTION ANALYSIS OF GENETIC NETWORK RELATED TO PLANT TRICHOME DEVELOPMENT

D.K. Konstantinov^{1, 2*}, A.V. Doroshkov², D.A. Afonnikov²

¹ Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

² Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

*e-mail: konstantinov@bionet.nsc.ru

Key words: molecular evolution, epidermal cells, trichome, root hairs

Motivation and Aim: Trichomes are involved in many significant functions such as the transpiration, thermoregulation and protection from insect attacks. On the other hand specialized cell formation is an fruitful model system for analyzing the molecular mechanisms of plant cell differentiation, including cell fate choices, cell cycle control, and cell morphogenesis. In plants, epidermal cells are easily accessible and allow *in vivo* study. Unicellular trichome formation is a classical experimental model for identification of the activator–inhibitor and the activator–depletion pattern formation models, studying the interplay between cell cycle and cell differentiation and numerous of genes involved in these processes were found. However, the evolution of specialized epidermal cell formation genetic network remains unclear. In this study, we analyze the phylogenetic relationships of genes associated with the formation of trichomes and root hairs from various species of flowering plants.

Methods and Algorithms: Using the text mining technology we reconstructed the network of interactions between known leaf pubescence genes using *A. thaliana* as a model organism. The genetic network model was clarified by the iterative improvement based on gene co-expression data. For each node was performed extraction of sets of homological sequences presets from databases was carried out using the reciprocal BLAST search. Multiple sequence alignment was conducted with MAFFT algorithm. The PhyML maximum likelihood algorithm was used to reconstruct the phylogeny and bootstrap resampling technique was used for testing the topology. Genetic networks containing target genes were reconstructed using Cytoscape and Pathway Studio software.

Results and Conclusion: As a result, work has been traced the main stages of gene network evolution, predicted time of appearance of its components. Our results argue that there is a fraction of genes involved in the formation of trichomes passed several relatively young duplication events and do not reveal a direct correspondence between monocotyledonous and dicotyledonous plants. Also, this facts justify that part of the cellular morphogenesis mechanisms evolved independently in dicots and monocots which reflects morphology differences. At the same time, we observe a good correspondence between studied genes of cell morphogenesis inside dicotyledonous as well as monocotyledonous clades. This allowed us to find orthologous genes in wheat genomic sequences and predict its chromosome localization to compare with known leaf hairiness QTLs.

SYSTEMS FORENSICS: SYSTEMS BIOLOGY AND THE INFERENCE OF CRIME

J.G. ('Anneke') Koster

Amsterdam University of Applied Sciences, Amsterdam, the Netherlands

e-mail: a.koster@HVA.NL

Key words: *systems forensics, network data analysis*

Motivation and Aim: Modern societies are not only subject to scientific activities trying to improve *la condition humaine*, but also to criminal activities that may lead to quite the opposite. The forensic sciences aim to develop methodologies that enable one to reconstruct criminal activities after the fact. They should further jurisdiction that is devoid of human prejudice and based on objective evidence.

Methods and Algorithms: We review modern methodologies close to systems biology that may inspire and propel the forensic sciences. We show how they may contribute to improved fact finding after the crime.

Results: At 'source level', DNA sequencing is developing as a follow up of an established DNA-repeats-based individual identification methodology. This may appear to be close to definitive when the DNA of a suspect matches. It may however merely attest to the presence of the suspect at the crime site, not to the presence at the time of the crime in a condition compatible with committing the crime. Additional use of functional genomics such as transcriptomics, metabolomics and microbiomics may inform about the condition of the suspect at the crime scene. Data integration, particularly with non-biological data such as information emerging from psychological or sociological investigations, integration of prior knowledge, and comparison with earlier crime scenarios, might all help, not only in court but also at the crime scene. Here datatypes and perhaps methodologies depart from systems-biology *pur sang*. Model-based (big) data integration, assisted by mechanism-based modelling may help crime scene investigators further.

Conclusions: The young field of systems forensics holds much promise for greatly improved justice.

TRANSCRIPTOME ANALYSIS OF BRAIN AREAS IN LABORATORY ANIMALS SELECTED BY AGGRESSIVE BEHAVIOR

Y.L. Orlov*, A.O. Bragin, V.N. Babenko, R.V. Kozhemyakina, A.L. Markel

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

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

Key words: *behavior, laboratory animals, transcriptome, gene expression, aggressiveness*

Motivation and Aim: Aggressive behavior is a complex phenomenon implying genetics and physiological roots [1]. To study a genetic component of aggressive behavior we used published data on genes expression (RNA-seq and microarrays) related to such behavior in rat, as well as own experimental data. We used unique experimental model developed at the Institute of Cytology and Genetics SB RAS grey rats (*Rattus norvegicus*), which have been subjected to selection during several generations in two directions – friendly, tolerant behavior towards human (tame rats). Thus we studied mechanisms of hereditary defined.

Methods and Algorithms: RNA-seq sequencing of rat brain areas samples was done using Illumina HiSeq. The set of computer tools and data processing pipelines helped to find genes and gene regulation patterns related to behavior patterns. RNA-profiling experiments revealed the lists of differentially expressed genes in the contrast samples as well as differentially spliced isoforms.

Results: By means of rMATs we identified several thousand alternatively spliced genes within each rat brain area studied. Many synapse related genes have statistically significant deviation in splicing depending on brain region and aggressive/tame status in rat. It is a novel phenomenon of the transcriptome data related to aggressive behavior

Conclusion: Heredity has been found to significantly contribute to aggressiveness in studies of various animal species, including monkeys, dogs, mice, birds, and humans. Hence, the genetic factors contribute substantially to the phenotypic variation of aggressiveness in populations. This is confirmed by inter-strain differences in the manifestation of aggression in laboratory animals and by the fast progress of selection for aggressiveness traits.

Acknowledgements: Authors acknowledge ICG SB RAS budget project (0324-2016-0008) and RSF.

References

1. Kudryavtseva N.N., Markel A.L., Orlov Y.L. (2015) Aggressive behavior: Genetic and physiological mechanisms. *Rus. J. Genetics: Appl. Res.* 5(4):413-429 (First online: 15 August 2015).

RECONSTRUCTION OF ASSOCIATIVE GENE NETWORK RELATED TO AGGRESSIVE BEHAVIOR IN RATS USING TRANSCRIPTOME DATA

O.V. Petrovskaya¹, I.V. Chadaeva^{1, 2*}, O.V. Saik¹, A.O. Bragin¹, E.S. Tiys¹

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

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

*e-mail: ichadaeva@bionet.nsc.ru

Key words: gene network, aggressive behavior genetic, transcriptome data, rat

Motivation and Aim: The analysis of aggressive behavior on model animals has shown the hereditary nature of this phenomenon. Transcriptomics studies on laboratory animals allowed detection of sets of differentially expressed genes related to aggressive behavior [1–3]. The aim of our study was to reconstruct the associative network of genes associated with aggressive behavior in rats, selected by this behavior type.

Methods and Algorithms: Using gene network research programs ANDSystem [4], we analyzed associations of genes/proteins with aggressive behavior and different biological processes, and own experimental data obtained by transcriptome profiling of rats [5].

Results: Based on the results of transcriptome sequencing, genes with identifiable alternative splicing were selected. Analysis by AndVisio [4] program has shown that from this list 10 genes (Mbp, Grin1, Ppp3ca, App, Unc13a, Lphn1, Apba1, Synj1, Kif1b, Nlgn3) are associated with the transmission of nerve signals. In the resulting network genes are connected by the following types of interactions: co-localization on the chromosome, experimentally verified and predicted links and gene co-expression. In addition, a gene network was created with the help of the Internet-accessible GeneMANIA software (<http://genemania.org/>) and STRING (<http://string-db.org>).

Conclusion: The analyzed genes were involved in such biological processes as neurotransmitter signaling pathways, hormonal regulation, cell transformation and adhesion, etc. We assume that the difference in the expression of these genes can determine the aggressive behavior in animals, particularly in rats of aggressive and tame lines.

Acknowledgements: Supported by ICG SB RAS budget project 0324-2016-0008.

References

1. Kudryavtseva N.N., Markel A.L., Orlov Y.L. (2015) Aggressive behavior: Genetic and physiological mechanisms. *Rus. J. Genetics: Appl. Res.* 5(4):413-429.
2. Babenko V.N. et al. (2016) Analysis of differential gene expression by RNA-seq data in brain areas of laboratory animals. *J. Integrative Bioinformatics.* 13(4):292.
3. Babenko V.N. et al. (2016) Analysis of transcriptome data on gene expression in brain areas of rats, selected by aggressive behavior. In: “*Neuroinformatics-2016*”, MEPhI, Moscow;2:82-92. (in Russian)
4. Ivanisenko V.A. et al. (2015) ANDSystem: an Associative Network Discovery System for automated literature mining in the field of biology. *BMC Syst. Biol.* 9(Suppl.2):S2.
5. Plyusnina I.Z., Os'kina I.N., Nikulina E.M. (1997) Selection vector and ontogenetic development of behavior under domestication of wild Norway rats. *Genetika.* 33(8):1149-54.

DESIGNING THE EMERGENCE OF PROGRESSIVE (PROP) AND REGRESSIVE (REP) PRECONDITIONING RESPONSES: FROM INTELLIGENT INTRACELLULAR NETWORKS TO THE DOMESTICATION OF ANIMALS

N. Sahin¹, H.V. Westerhoff^{1, 2, 5, 6}, A. Kolodkin^{1, 2, 3, 4*}

¹ Molecular Cell Physiology, VU University Amsterdam, the Netherlands, EU

² Infrastructure Systems Biology Europe – ISBE.NL, EU

³ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

⁴ Luxembourg Centre for Systems Biomedicine, University of Luxembourg, Luxembourg, EU

⁵ SILS, University of Amsterdam, the Netherlands, EU

⁶ Manchester Centre for Integrative Systems Biology, UK, EU

*e-mail: a.n.kolodkin@vu.nl

Key words: systems biology, *in silico* reconstruction of emergence, design, progressive response (PROP), regressive response (REP), intracellular networks, features of intelligence

Motivation and Aim: When a biological system responds to changes in its environment an intriguing feature of intelligence may emerge – the ability to remember previous responses and their outcomes. This may be explicated as the phenomenon of preconditioning. A first perturbation may have changed the system, for example, increasing concentrations of certain proteins in a cell, decreasing the number of individuals of a certain species in a microbial population (in the evolution of a microbial community), provoking growth of a tissue such as muscle (during physical exercise), or establishing new connections between neurons (the learning ability of the brain). A subsequent perturbation may cause a different outcome. This may work in either of two opposite directions: (i) progressive preconditioning (PROP) – when the system is trained and prepared to deal with the second perturbation more efficiently (immunization, training, learning etc.) and (ii) regressive preconditioning (REP) – when the system is exhausted with every new response bringing it closer to a final collapse (in the terminology of Hans Selye, stress becoming distress). Sometimes, the outcome (PROP or REP) might depend on additional preconditioning (environment, genetic context etc.). Systems biological approaches may help to predict PROP or REP and also to simulate its dynamics for specific situations. **Methods and Algorithms:** We present a pipeline for how dynamic ODE-based models may be used to reconstruct the emergence of PROP and REP responses *in silico* for a wide spectra of biological systems.

Results: Our models show dynamic PROP and REP responses and how various factors may affect their dynamics. We show how PROP or REP works in various systems, e. g. in the signaling network of nuclear receptors [1–3], in intracellular networks of microorganisms [4], and in dynamic models that may be relevant for animal domestication.

Conclusions: Although the emergence of PROP and REP cannot be reduced to the properties of a system's elements alone, this emergence may still be reconstructed *in silico*, taking into consideration the information about the interactions in the system. Although design and emergence may appear opposites, systems biological models enable the design of PROP and REP behavior, as desired for precision biotechnology and medicine.

References

1. Kolodkin A., Sahin N., Phillips A., Hood S.R., Bruggeman F.J., Westerhoff H.V. et al. (2013) Optimization of stress response through the nuclear receptor-mediated cortisol signalling network. *Nat. Commun.* 4.
2. Kolodkin A., Simeonidis E., Westerhoff H.V. (2013) Computing life: Add Logos to biology and Bios to physics. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 111:69-74. Epub 2012/10/30.
3. Kolodkin A.N., Bruggeman F.J., Plant N., Mone M.J., Bakker B.M., Campbell M.J. et al. (2010) Design principles of nuclear receptor signaling: how complex networking improves signal transduction. *Mol. Syst. Biol.* 6:446. Epub 2010/12/24.
4. Westerhoff H.V., Brooks A.N., Simeonidis E., Garcia-Contreras R., He F., Boogerd F.C. et al. (2014) Macromolecular networks and intelligence in microorganisms. *Front. Microbiology.* 5:379. Epub 2014/08/08.

EVOLUTIONARY HISTORY OF THE MALARIA MOSQUITOES FROM MACULIPENNIS GROUP IN EURASIA

M.V. Sharakhova^{1,2*}, A.A. Yurchenko³, A.N. Naumenko¹, G.N. Artemov²,
V.N. Stegny², I.V. Sharakhov¹

¹ Virginia Polytechnic and State University and Fralin Life Science Institute, Blacksburg, USA

² Laboratory of Evolutionary Cytogenetics, Tomsk State University, Russia

³ Institute of Biodiversity Animal Health and Comparative Medicine, University of Glasgow, UK

*e-mail: msharakh@vt.edu

Key words: malaria mosquito, transcriptome, phylogenomics

Motivation and Aim: The Maculipennis group of malaria mosquitoes is subdivided into two Nearctic and one Palearctic subgroups [1]. Although previous studies considered the Nearctic subgroups as ancestral, the details of the mosquito migration from North America to Eurasia remains a subject of debate.

Methods and Algorithms: Based on *de novo* transcriptome assemblies and successive orthology inference, we conducted a multigene phylogenomic analysis for 11 species that represent all three subgroups of these mosquitoes. Maximum likelihood tree was generated using 2267 orthologous genes and divergence time was calibrated based on the suggested *An. sinensis* – *An. atroparvus* divergence time.

Results: Our study reconstructed phylogenetic relationship between 9 Palearctic and 2 Nearctic members of the group. The analysis supports previous observation about the existence of Eurasian and European clades in mosquito evolution. However, alternatively to previous phylogenies, our analysis demonstrated that all Palearctic members of the group cluster together suggesting a single migration of the mosquitoes from North America to Eurasia. Moreover, the Eurasian species *An. beklemishevi* clusters more closely with *An. freeborni* that occupies the Western United States rather than with *An. quadrimaculatus*, a species from the Eastern United States.

Conclusion: Our time-calibrated tree strongly suggests a single migrational event of the mosquitoes of the Maculipennis group from North America to Eurasia through the Bering Bridge Land about 11 million years ago and their further divergence into Eurasian and European clades.

Acknowledgements: The research was supported by the Russian Science Foundation grant No. 15-14-20011.

References

1. Harbach R.E. (2004) The classification of genus *Anopheles* (Diptera: Culicidae): a working hypothesis of phylogenetic relationships. *Bull. Entomol. Res.* 94(6):537-53.

SPLICE VARIANTS MICROARRAY DESIGN PIPELINE

L.A. Solntsev*, O.V. Utkin, D.I. Knyazev, V.D. Tsvetkova, E.N. Filatova,
N.A. Sakharov

*Blokhina Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Nizhny Novgorod,
Nizhny Novgorod, Russia*

**e-mail: solntsev.l.a@nniiem.ru*

Key words: *genome, splicing, mRNA, microarray, Matlab*

Motivation and Aim: The implementation of the immune response to bacterial and viral infections involves hundreds of genes. Many of them are characterized by considerable polymorphism at the level of the transcriptome, which is based on alternative splicing. For studying the gene expression the usage of high-density biological microarrays seems to be very attractive. One of the key problems of oligonucleotide microarray technology is the design of probes. Existing ready-to-use software are focused on the selection of probes in order to estimate the total gene expression without regard to their splice variants. There are also other disadvantages, including the inability to make adjustments in the algorithms and the limitations of the data input volume. Based on the above, an urgent task was to develop the optimum probe selection strategy devoid of these shortcomings.

Methods and Algorithms: We suggested an eight-step algorithm: (1) formation of the list of genes; (2) obtaining data about isoforms of these genes; (3) formation of the list of gene isoforms; (4) preparation of nucleotide sequences of genes and isoforms; (5) generation a pool of sequences that are considered as pre-probes: calculation of the melting temperature, the percentage of GC pairs, the length of nucleotide repeats and minimum folding energy of each pre-probe and their comparison with critical values and localization of pre-probes at the junction of exons; (6) checking the specificity of the pre-probes; (7) calculation of pre-probe rating; (8) generation of the final list of probes, according to the limitations of previous steps. Algorithm was implemented as a set of scripts at Matlab language including a native source Matlab function (mex file) on C++ and the source code provided by the authors (Mfold). To test the specificity of the probes BLAST was used.

Results: An array of nucleotide sequences of 29627917 units (an average of 36 thousand sequences with the length from 20 to 40 n.b. for each molecular target) of the model set was processed using a developed algorithm. Elapsed time was about 12 hrs. Final pool contained 1042 probes for detection of the expression of genetic determinants of pathogenesis including 815 probes from 826 mRNA splice variants of 223 genes, which were involved in immune response. To the 11 mRNA splice variants no probes were found due to selection limitations at step 5 and also because of the high level of similarity between some isoforms.

Conclusion: We have developed an algorithm that allows to generate the probe pool for multiplex assay of the expression of mRNA, spliced mRNA variants and genes involved in the immune response and the pathogenesis of bacterial and viral infections. The developed software is free to use and can be modified to address wide range of tasks associated with the creation of the design of oligonucleotide microarray.

Availability: Source code is available under the link <https://cloud.nniiem.ru/s/UgjVL6jCLkhNyIs>.

THE ROLE OF *Gabrd*, *Nos1*, *Syn1* AND *Pomc* GENES IN BEHAVIOR AND THEIR EXPRESSION IN RAT BRAIN AREAS BY RT-PCR

K.A. Tabanyuhov*, E.P. Mazurina, N.I. Krivosheina, R.V. Kozhemyakina,
N.V. Klimova, I.V. Chadaeva

Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

*e-mail: tabanyuhov93@mail.ru

Key words: *behavior, rat, brain, RT-PCR, gene expression, aggressiveness*

Motivation and Aim: Aggressive behavior is a complex phenomenon implying genetics and physiological roots [1]. We used unique experimental model developed at the Institute of Cytology and Genetics SB RAS grey rats (*Rattus norvegicus*), which have been subjected to selection during several generations in two directions – tame rats and aggressive ones [2]. In the experiment were issued the samples from three parts of rat brain: hypothalamus, mesencephalic tegmentum and periaqueductum grey matter.

Methods and Algorithms: In this issue the computer analysis was involved in the investigation of molecular basement of the nervous system and studying of interaction between genes and gene expression regulation in brain cells. Modern sequence technologies and microarray assays are involved in research of gene expression in brain at a higher level. In the research were investigated the genes *Gabrd*, *Nos1*, *Syn1*, *Pomc*. RT-PCR was used to estimate gene transcription level for these genes. Previously RNA-profiling experiments revealed the lists of differentially expressed genes in the contrast samples as well as differentially spliced isoforms.

Results: By RT-PCR was tested differential expression of the investigated genes in three rat brain areas (hypothalamus, mesencephalic tegmentum and periaqueductum grey matter). For example, in the mesencephalic tegmentum the expression of *Gabrd* was 10 times higher in tame rats. Many synapse related genes have statistically significant deviation in splicing depending on brain region and aggressive/tame status in rat.

Conclusion: The RT-PCR confirmed differential expression of these genes in rat brain areas for aggressive and tame rat lines. Heredity has been found to significantly contribute to aggressiveness in studies of various animal species that has important role for animal farming and selection. The genetic factors contribute substantially to the phenotypic variation of aggressiveness in populations.

Acknowledgements: Authors acknowledge ICG SB RAS budget project (0324-2016-0008) and RSF (14-14-00269).

References

1. Kudryavtseva N.N., Markel A.L., Orlov Y.L. (2015) Aggressive behavior: Genetic and physiological mechanisms. *Rus. J. Genetics: Appl. Res.* 5(4):413-429 (First online: 15 August 2015).
2. Babenko V.N. et al. (2016) Analysis of differential gene expression by RNA-seq data in brain areas of laboratory animals. *J. Integrative Bioinformatics.* 13(4):292.

COMPARING MIRNA STRUCTURE OF MIRTRONS AND NON-MIRTRONS

I.I. Titov^{1,2*}, P.S. Vorozheykin²

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

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

*e-mail: titov@bionet.nsc.ru

Key words: *microRNA, mirtron, miRNA, biogenesis, secondary structure, Dicer structure, overhang*

Motivation and Aim: MicroRNAs – small regulatory RNAs, which are crucial for various developmental and cell processes. They proceed through the different canonical and non-canonical pathways; the most frequent of the non-canonical ones is the splicing-dependent biogenesis of mirtrons. We compare the mirtrons and non-mirtrons to explore how their maturation appears in the precursor's structure around the miRNAs.

Results: We found the coherence of the overhang lengths what indicates the dependence between the cleavage sites. To explain this dependence we suggest the 2-lever model of the Dicer structure in which the imprecisions in Drosha and Dicer become coupled. Considering the secondary structure of all animal pre-miRNAs we confirmed that single-stranded nucleotides tend to be located near the miRNA boundaries and in its center and found that they are characterized by a higher mutation rate. The 5' end of the canonical 5' miRNA approach the nearest single-stranded nucleotides what suggests the extension of the loop-counting rule [1] from the Dicer to the Drosha cleavage site. For the mirtrons a typical pre-miRNA was shown to differ from the canonical precursor in the structure and possesses the 1- and 2nt hanging ends at the hairpin base. Together with the excessive variability of the mirtron Dicer cleavage site this is one more evidence for the 2-lever model. In contrast with the canonical miRNAs the mirtrons have high SNP density and are inversely associated with diseases: this suggests that the mirtrons are under positive selection while the canonical miRNAs are under the negative one. Finally, we considered the interference of the pre-miRNA structure and the U2snRNA:pre-mRNA base-pairing [2]. Also we analyzed the location of the branchpoints to find out the specificity of the lariat formation for the mirtrons.

Conclusion: The miRNA biogenesis manifests itself in the footprints of the secondary structure. Close inspection of these structural properties can help to uncover new miRNA biogenesis and to refine the known miRNA data, in particular, new non-canonical miRNAs may be predicted or the known miRNAs can be re-classified.

References

1. Gu S., Jin L., Zhang Y. et al. (2012) The loop position of shRNAs and pre-miRNAs is critical for the accuracy of dicer processing *in vivo*. *Cell*. 151:900-911.
2. Taggart A., Lin C., Shrestha B. et al. (2017) Large-scale analysis of branchpoint usage across species and cell line. *Genome Research*. 27:639-649.

PRINCIPLES OF SYSTEMS BIOLOGY AND DMITRI BELYAEV'S CO-SELECTION OF TRAITS

H.V. Westerhoff

Synthetic Systems Biology, SILS, NISB, the University of Amsterdam, NL, EU
Molecular Cell Physiology, NISB, VU University Amsterdam, Amsterdam, NL, EU
Manchester Centre for Integrative Systems Biology, Manchester, UK, EU
Infrastructure Systems Biology Europe at NL and UK (www.isbe.nl)
e-mail: hans.westerhoff@manchester.ac.uk

Key words: *systems biology, Waddington's genetic landscape, Darwinian selection, Mendelian traits, co-selection of traits*

Waddington's genetic landscape and Kacsers's distributed flux control have greatly helped in extending the gene-based theory of Darwinian selection to genomes and the dynamic networks they encode. Indeed, it is not the gene that is selfish, but the genome or rather its 'expressome'. If existent, Lamarckian inheritance would readily explain domestication of wild animals and should offer great potential for plant breeding, but it is not much of a tenable explanation. Although epigenetics can lead to non-Mendelian inheritance, mechanisms enabling a phenotypic change to affect the genotypic accordingly, if any, appear rare and weak. Moreover, Belyaev and colleagues demonstrated experimentally that domestication of wild animals could proceed through selection in ways understandable through Darwinian selection for Mendelian traits.

Belyaev noted however that many other traits such as dropping ears, are co-selected. Here the Darwinian explanation may be less obvious. In this presentation we shall discuss a number of principles of biology that have been discovered by systems biology are its antecedents. These include the lack of dominance in genetics, the excess of silent (flux-neutral) mutations, the failure of GWAS to identify key genes causative for disease, and the multiplicity of genotypes corresponding to a single disease phenotype. We shall also discuss why metabolic properties are naturally co-selected and thereby contribute to a further understanding of Belyaev findings.

We shall also highlight the uses of recent systems biology methodologies such as genome wide metabolic mapping and flux balance calculations. We shall do this from a medical (inborn errors of metabolism), a biotechnological (PHB production from syn-gas), and an origin of Life perspective.

Секция
ГЕНЕТИКА РАСТЕНИЙ

Session
PLANT GENETICS

ПОСТАНОВКА МЕТОДА ГЕНОМНОГО РЕДАКТИРОВАНИЯ ДЛЯ СИБИРСКИХ СОРТОВ ЯРОВОГО ЯЧМЕНЯ

С.В. Герасимова*, А.М. Короткова, Е.К. Хлесткина

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: gerson@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: редактирование генома, ячмень, CRISPR/Cas

Мотивации и цели: Сайт-направленный мутагенез при помощи системы CRISPR/Cas9 является одним из наиболее перспективных методов современной селекции. Он позволяет в кратчайшие сроки модифицировать хозяйственные признаки культурных растений. На ячмене метод был поставлен только для модельного сорта «Golden promise». Для введения метода в селекционную практику необходимо адаптировать его к особенностям сортов конкретного района. Целью данной работы является скрининг сибирских сортов ярового ячменя на способность к культивированию и регенерации *in vitro*, а также на чувствительность к методам генетической трансформации и геномного редактирования.

Материалы и методы: Работа проводилась на 11 сортах ячменя: «Биом», «Талан», «Ворсинский 2», «Алей», «Ача», «Сигнал», «Л-421», «Колчан», «В-1», «Красноярский 91», «Golden Promise». Оценивалась способность сортов к каллусообразованию, органогенезу и регенерации *in vitro*. На отдельных сортах проводилась генетическая трансформация методами агробактериальной трансформации и биобаллистики. Генетические векторы, использовавшиеся для трансформации, несли элементы системы CRISPR/Cas, направленной на мутагенез гена *Nud*. Детекция мутаций в геномной ДНК проводилась методом последовательной ПЦР и рестрикции.

Результаты: Оценка регенерационного потенциала сибирских сортов ячменя в культуре *in vitro* выявила, что сорта «Алей», «Биом» и «Сигнал» обладают высокой способностью к регенерации, сравнимой с модельным сортом «Golden Promise». Были созданы генетические конструкции, несущие гены нуклеазы Cas9, направляющей РНК, нацеленной на ген *Nud*, и ген устойчивости к фосфинотрицину в качестве селективного маркера. Была проведена агробактериальная и биобаллистическая генетическая трансформация нескольких сортов ячменя, получены каллусы, устойчивые к гербициду. Проводится анализ трансформированных тканей на наличие мутаций в гене *Nud*. Выявлены отдельные позитивные сигналы.

Заключение: Сорта ячменя сибирской селекции имеют разную способность к культивированию и регенерации *in vitro*. Были выявлены перспективные сорта для проведения генно-инженерных работ, на выявленных сортах проводится постановка метода редактирования генома при помощи системы CRISPR/Cas9.

Благодарности: Работа поддержана грантом РНФ (16-14-00086).

АНАЛИЗ ТРАНСКРИПЦИОННОЙ РЕГУЛЯЦИИ ПРОМОТОРА ГЕНА ОРНИТИНАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ *ARABIDOPSIS THALIANA*

А.А. Егорова*, В.В. Горелова, С.В. Герасимова

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: egorova@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: орнитинаминотрансфераза, *Arabidopsis thaliana*, β -глюкуронидаза

Введение: Фермент орнитинаминотрансфераза (ОАТ) катализирует перенос аминогруппы с L-орнитина на альфа-кетоглутарат. Этот фермент связывает несколько метаболических процессов – цикл мочевины, путь биосинтеза полиаминов и алкалоидов, синтеза и деградации пролина. В литературе функции фермента ОАТ связывают с абиотическими и биотическими стрессами, метаболизмом азота. Но данные о физиологической роли этого фермента в норме и при стрессе до сих пор остаются разрозненными. В данной работе нами было решено проанализировать транскрипционную регуляцию промотора гена ОАТ *Arabidopsis thaliana* в норме, а также в ответ на различные индукторы.

Материалы и методы: Для получения трансгенных растений использовались растения *A. thaliana* сорта Columbia, репортерная конструкция создавалась на основе вектора pBi101, который несет ген устойчивости к канамицину и репортерный ген бета-глюкоронидазы *E. coli*. Для анализа транскрипционной регуляции промотора проростки перемещались на среду с добавлением различных индукторов, а также подвергались стрессовым воздействиям. Определение паттерна экспрессии репортерного гена β -глюкуронидазы проводилось с использованием модифицированного субстрата X-Gluc. Компьютерный анализ промоторной области выполнялся с помощью базы данных PLACE.

Результаты: Была создана конструкция, несущая репортерный ген бета-глюкуронидазы *E. coli* под промотором гена ОАТ *A. thaliana*, получены растения-трансформанты *A. thaliana*, несущие данную конструкцию. Экспрессия гена-репортера наблюдалась при прорастании семени, в развивающихся пестиках и пыльниках, а также в ответ на различные ауксины (НУК, ИУК, 2,4D), цитокинины (БАП), предшественник этилена (АЦК), повышенную концентрацию азота и NaCl. Обнаружены цис-элементы, связанные с ответами на ауксин, абиотические стрессы, которые могут принимать участие в регуляции промотора.

Заключение: Полученные результаты позволяют сделать вывод о связи гена ОАТ с ростовыми процессами. Возможно, он принимает участие в метаболических процессах, активно протекающих в растущих частях растений, в частности, в процессах азотного метаболизма.

Благодарности: Работа поддержана бюджетным проектом VI.53.1.3.

ТРАНСГЕННЫЕ РАСТЕНИЯ КАРТОФЕЛЯ, НЕСУЩИЕ ГЕН ЭКСТРАКЛЕТОЧНОЙ РИБОНУКЛЕАЗЫ ЦИНИИ (*ZRNaseII*), КАК МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ УСТОЙЧИВОСТИ К ФИТОПАТОГЕНАМ

С.М. Ибрагимова*, Е.А. Трифонова, Е.А. Филипенко, А.В. Кочетов

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: isola@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: картофель, *Solanum tuberosum* L., экстраклеточные рибонуклеазы, трансгенные линии, фитофтороз, *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, устойчивость

Мотивация и цели: До 83 % хозяйственно важных культур растений поражается болезнями, вызываемыми грибами. Особую опасность для такой важной пищевой культуры, как картофель, представляет заражение фитофторозом, вызываемое грибом *P. infestans*. Поиски путей повышения устойчивости к фитопатогенам – это первоочередная задача, стоящая перед исследователями. Существует предположение, что одна из функций экстраклеточных S-подобных РНКаз растений связана с механизмами неспецифической защиты от патогенов грибковой и вирусной природы. Цель работы – исследовать роль экстраклеточных S-подобных РНКаз растений, на примере модельных трансгенных растений картофеля, несущих ген экстраклеточной рибонуклеазы цинии *ZRNaseII* в формировании устойчивости к фитопатогенам.

Методы: Трансгенные растения картофеля были получены на основе сорта Никулинский методом агробактериальной трансформации листовых дисков и междоузлий стерильных пробирочных растений. Уровень нуклеазной активности определяли в грубых листовых экстрактах контрольных и первичных трансформантов картофеля. Фитопатологический тест проводили в лабораторных условиях. В качестве фитопатогенного гриба использовали *P. infestans*.

Результаты: Получены трансгенные растения картофеля, рибонуклеазная активность у которых в 4–10 раз превышала таковую у контрольных нетрансгенных растений. Проведенный лабораторный фитопатологический тест на отделенных листьях горшечных растений картофеля с использованием культуры фитофторы показал значительную задержку развития симптомов заражения или их отсутствие у трансгенных растений с высокой рибонуклеазной активностью, по сравнению с контролем. Цитологический тест подтвердил наличие большего числа зооспор в тканях контрольных растений с. Никулинский по сравнению с трансгенными растениями, несущими ген экстраклеточной рибонуклеазы цинии *ZRNaseII*.

Заключение: Создана новая генетическая модель – трансгенные растения картофеля, характеризующиеся повышенным уровнем активности экстраклеточных рибонуклеаз в апопласте. Показано, что увеличенная экспрессия экстраклеточной S-подобной РНКазы цинии повышает устойчивость растений к такому фитопатогену как *P. infestans*, что свидетельствует о возможном участии экстраклеточных рибонуклеаз растений в механизмах защиты их от патогенов грибной природы.

Благодарности: Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФ № 16-16-04073.

НАСЛЕДОВАНИЕ, ЛОКАЛИЗАЦИЯ И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА БЫСТРОМИГРИРУЮЩЕГО ВАРИАНТА АРОМАТИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬДЕГИДРОГЕНАЗЫ НАДФ-CAD1F У ГЕКСАПЛОИДНЫХ ПШЕНИЦ

А.А. Коновалов^{1*}, И.К. Шундрин², Е.В. Карпова², С.Р. Туманян¹,
А.Е. Кузнецова¹, Е.Я. Кондратенко¹, Н.П. Гончаров¹

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, Новосибирск, Россия

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

Ключевые слова: пшеница, изоферменты, ароматическая алкогольдегидрогеназа, лигнин, структура соломины

Полиморфизм по ферментным локусам может иметь различные воздействия на организмы, от нейтрального до летального. Функциональные особенности аллельных вариантов ферментов необходимо изучать экспериментальным путем. В наших исследованиях изучен полиморфизм ароматической алкогольдегидрогеназы (CAD – cinnamyl alcohol dehydrogenase, дегидрогеназа коричневого спирта; EC 1.1.1.195) у пшеницы. Этот фермент является одним из ключевых звеньев ароматического метаболизма растений. У некоторых сортообразцов гексаплоидной пшеницы обнаружен дополнительный быстромигрирующий вариант CAD, присутствие которого обозначено как F (функциональный), отсутствие – как 0 (нулевой). Ген *CAD1F* (*AAdh1F*) с генотипами FF, F0 и 00, по данным нуллитетрасомного и дителосомного анализа, локализован в длинном плече хромосомы 5A. Присутствие быстромигрирующего варианта НАДФ-CAD влияет на ряд хозяйственно важных признаков пшеницы. Обнаружено влияние генотипов CAD1F на структуру соломины, содержание ароматических веществ в тканях, зерновую продуктивность. Растения FF имеют более высокую зерновую продуктивность, в основном за счет большего числа продуктивных побегов; при этом масса зерновки у них меньше. Лигнин у генотипов FF и 00 различается по соотношению структурных мономеров. Лигнин растений FF имеет меньше сиригильных звеньев, при этом повышено содержание гемицеллюлоз. Наблюдается разница по толщине склеренхимных звеньев и по диаметру сосудов. Срезы проростков и стеблей имеют более сильную автофлюоресценцию, что свидетельствует о различиях в содержании ароматических веществ. Полученные результаты могут быть использованы в селекционной работе на улучшение архитектуры растений.

ИМПОРТ ДНК И НЕСТАБИЛЬНОСТЬ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ: ЭВОЛЮЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ

Ю.М. Константинов^{1*}, М.В. Кулинченко¹, Е.С. Клименко¹, Т.А. Болотова¹,
В.И. Тарасенко¹, В.Н. Шмаков¹, В.И. Бельков¹, В.В. Черникова¹,
Ф. Вебер-Лотфи², А. Дитриш²

¹ Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Россия

² Институт молекулярной биологии растений, Страсбург, Франция

*e-mail: yukon@sifibr.irk.ru

Ключевые слова: митохондрии, импорт ДНК, белковые факторы импорта, горизонтальный перенос генов

Мотивация и цель: Молекулярные механизмы обнаруженной ранее в митохондриях растений природной компетентности к активному поглощению ДНК [1] и возможные эволюционно-генетические последствия этого явления у растений и других представителей высших эукариот остаются пока недостаточно изученными. Целью работы была попытка выявления альтернативных путей переноса ДНК из цитоплазмы в матриксное пространство этих органелл у растений.

Материалы и методы: Объектом исследований были высокоочищенные митохондрии, изолированные из клубней картофеля (*Solanum tuberosum*) и растений арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana*) дикого типа и линий с мутациями в генах, кодирующих белки-кандидаты на участие в митохондриальном импорте ДНК. Активность импорта ДНК в митохондрии измеряли с использованием радиоизотопного метода и метода количественной ПЦР.

Результаты: Обнаружено, что транспорт ДНК малой (≤ 300 п.н.), средней (700–3000 п.н.) и большой (≥ 3500 п.н.) длины через наружную и внутреннюю мембраны митохондрий *S. tuberosum* и *A. thaliana* осуществляется с использованием различающихся механизмов. Митохондриальный импорт ДНК длиной от 700 до 3000 п.н. реализуется с участием двух изоформ белка-переносчика порина и рецепторных белков наружной мембраны, а также аденинуклеотидтранслоказы внутренней мембраны митохондрий. На основании полученных в работе данных и анализа результатов проведенных ранее геномных исследований обосновывается представление о роли механизмов переноса ДНК в митохондрии в эволюционных преобразованиях структуры митохондриального генома видов-представителей высших растений.

Заключение: Импорт молекул ДНК разной длины в растительные митохондрии осуществляется с использованием различающихся мембранных механизмов. Данные природные механизмы могут в будущем послужить основой для разработки технологий доставки генов в митохондрии в условиях *in vivo*.

Благодарности: Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ (15-04-05046, 15-54-16010, 16-04-01400).

Список литературы

1. Koulintchenko M., Konstantinov Y., Dietrich A. (2003) Plant mitochondria actively import DNA via the permeability transition pore complex. *EMBO J.* 22:1245-1254.

МЕЖКЛЕТОЧНАЯ МИГРАЦИЯ ЯДЕР В МУЖСКОМ МЕЙОЗЕ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ: ПРИЧИНЫ И ПОСЛЕДСТВИЯ

С.Р. Мурсалимов*, Ю.В. Сидорчук, А.А. Загорская, Е.В. Дейнеко

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: mursalimovsr@gmail.com

Ключевые слова: цитомиксис, межклеточные каналы, миграция ядер, конфокальная микроскопия, FISH, модификации гистонов

Мотивация и цель: Целью работы было изучение феномена межклеточной миграции ядер (цитомиксиса) в мужском мейозе высших растений. Планировалось проанализировать функциональное состояние и хромосомный состав хроматина, мигрирующего между клетками.

Методы и алгоритмы: В микроспорогенезе табака клетки с цитомиксисом были изучены с помощью электронной, световой и лазерной сканирующей конфокальной микроскопии. Для анализа мигрирующего хроматина применялись методы иммуноокрашивания, флуоресцентной и геномной *in situ* гибридизации.

Результаты: Было показано, что хроматин, мигрирующий между клетками, окружен неповрежденной ядерной оболочкой. Такой хроматин не подвергается гетерохроматизации и в нем присутствуют нормальные маркеры эухроматина. Степень конденсации мигрирующего хроматина соответствует текущей стадии мейоза, и в нем выявляются нормальные структуры синаптонемного комплекса. В клетках с цитомиксисом не обнаруживаются морфологические и молекулярные маркеры программируемой клеточной гибели. Показано, что межклеточная миграция индивидуальных хромосом и геномов (в случае аллополиплоидов) происходит случайным образом.

Заключение: Хроматин, мигрирующий между мейоцитами, не подвергается модификации или деградации, что предполагает его участие в изменении уровня плоидности формируемых гамет.

Благодарности: Работа поддержана грантом РФФИ № 16-34-60007 мол_а_дк.

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К СОЗДАНИЮ НОВЫХ ГЕНОТИПОВ И УСКОРЕНИЮ СЕЛЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Л.А. Першина^{1,2*}, Л.И. Белова¹, Л.А. Кравцова¹, Т.С. Осадчая¹, Н.В. Трубачеева¹, В.К. Шумный^{1,2}, И.А. Белан³, Л.П. Россеева³, В.В. Немченко⁴

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Сибирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства, Омск, Россия

⁴ Агрохолдинг «Кургансемена», Курган, Россия

*e-mail: pershina@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: мягкая пшеница, аллоплазматические линии, ДГ-линии, сорта яровой мягкой пшеницы

Серьезную озабоченность генетиков и селекционеров вызывает сокращение генетического разнообразия культурных растений, поскольку снижается их адаптивность к изменяющимся условиям окружающей среды и устойчивость к болезням и вредителям. В наших исследованиях разрабатываются подходы, направленные на получение новых генотипов мягкой пшеницы за счет изменчивости ядерно-цитоплазматических взаимодействий у создаваемых аллоплазматических линий (алло-линий) пшеницы с цитоплазмой видов ячменя (культурного – *H. vulgare* и дикорастущего – *H. marinum* ssp. *gussoneanum*), а также получения на их основе гомозиготных линий с фиксированным сочетанием целевых генов разного происхождения, ответственных за устойчивость к грибным патогенам. С этой целью применяются разрабатываемые методы: восстановления фертильности и преодоления ядерно-цитоплазматической несовместимости при отдаленных скрещиваниях; интрогрессии чужеродных генов в ядерный геном алло-линий; культивирования пыльников для получения дигаплоидных линий (ДГ-линий). Установлена необходимость предселекционного отбора ДГ-линий по уровню продуктивности, цитогенетической стабильности, наличию целевых генов. Большое разнообразие интрогрессивных ДГ алло-линий включена в селекционный процесс в качестве нового исходного материала. Показано, что использование ДГ-линий ускоряет отборы по заданным агрономическим признакам. Доказана перспективность использования ДГ алло-линий в селекции яровой мягкой пшеницы. Так, на основе гибридной популяции, полученной в результате скрещивания одной из ДГ алло-линий мягкой пшеницы с цитоплазмой культурного ячменя с линией мягкой пшеницы, носителем чужеродного генетического материала, создано два сорта яровой мягкой пшеницы – Сигма и Уралосибирская 2. Эти сорта характеризует повышенная урожайность, высокое качество зерна, устойчивость к стеблевой и бурой ржавчинам.

Благодарности: Работа выполнена в рамках госзадания по проекту № 0324-2015-0005 и при поддержке РФФИ (17-04-01738).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ СЕЛЕКЦИИ ДЛЯ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ФОРМ ГИБРИДНОЙ ПШЕНИЦЫ

Е.П. Размахнин*, Т.М. Размахнина, Н.И. Степочкина, В.Е. Козлов,
И.Е. Лихенко, Г.Ю. Галицын

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: eprazmakh@yandex.ru

Ключевые слова: пырей сизый *Elytrigia intermedium*, андрогенез *in vitro*, отдаленная гибридизация, «листовая нянька», гибридная пшеница

Хлеб – основной продукт питания для большинства населения Земли. Насущной потребностью селекции является разработка эффективных методов и технологий для увеличения биоразнообразия и улучшения качества пшеницы. Одним из направлений для создания новых форм пшеницы является передача ценных признаков от ее диких сородичей, в частности от разных видов пырея.

Пырей обладает следующими признаками, которые желательно передать культурным злакам: зимостойкость, соле- и засухоустойчивость, повышенное содержание белка и клейковины в зерне, устойчивость к заболеваниям, меньшая требовательность к плодородию почв по сравнению с пшеницей, неполегаемость, многоцветковость и многоколосковость.

Начиная с 1985 г. нами ведется работа по созданию андрогенных линий пырея сизого методом культивирования пыльников (андрогенез *in vitro*) и использованию этих линий в качестве доноров ценных признаков для получения новых форм гибридной пшеницы. В результате была разработана и усовершенствована технология получения гаплоидов пырея и создана коллекция андрогенных растений пырея сизого, обладающих качественными андрогенными характеристиками и рядом других ценных признаков, среди которых можно выделить главные: высокую скрещиваемость с пшеницей и морозостойкость [1]. Это позволило нам с высокой эффективностью использовать полученные линии в дальнейшей работе по передаче ценных признаков от пырея пшенице методом отдаленной гибридизации и разработанным нами оригинальным методом «листовой няньки» [2]. Получен и проходит предварительные и конкурсные испытания обширный материал озимых и яровых форм пшенично-пырейных гибридов и линий озимой пшеницы, полученных методом листовой няньки.

Таким образом, можно утверждать, что нами создана уникальная технология получения новых форм гибридной пшеницы. В настоящее время эта технология активно используется в ФИЦ ИГиГ СО РАН для создания новых перспективных сортов яровой и озимой пшеницы.

Список литературы

1. Размахнин Е.П. (2017) Андрогенез *in vitro* у пырея сизого *Elytrigia intermedium*. (под ред. Н.П. Гончарова). Новосибирск: АО «НИИСистем»; 144.
2. Razmakhnin E.P. et al. (2012) Raising highly frost-resistant *Agropyron-Triticum* hybrids. *Rus. J. Genetics: Appl. Res.* 2:344-351.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА ПРОЦЕСС МОРФОГЕНЕЗА В КУЛЬТУРЕ ПЫЛЬНИКОВ ПЫРЕЯ И ПРОДУКТИВНОСТЬ ПШЕНИЦЫ

Т.М. Размахнина*, Е.П. Размахнин

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: eprazmakh@yandex.ru

Ключевые слова: физиологически активные вещества, пшеница, пырей, андрогенез *in vitro*, продуктивность

Проведен сравнительный анализ способности различных физиологически активных веществ (ФАВ), таких как фитогормоны, биопрепараты из хвойных, экстракт из листьев пырея, стимулировать рост, развитие и продуктивность (РП) растений пшеницы в лабораторных экспериментах и в производстве [1–4]. В некоторых вариантах обработок достигнуто превышение параметров РП по сравнению с контролем более чем в два раза. Прослежен эффект последствия однократной обработки ФАВ на пшенице до 5-го поколения включительно. Разработан и запатентован экспресс-метод анализа морозостойкости у злаков [5]. С помощью данного метода исследовано влияние ФАВ на морозостойкость проростков озимой пшеницы. Показано значительное увеличение морозостойкости пшеницы обработкой ФАВ. Изучено влияние ФАВ на индукцию андрогенных структур и регенерацию из них андрогенных гаплоидных растений в культуре изолированных пыльников двух видов пырея – *Elytrigia intermedium* и *Elytrigia elongatum* [1–4]. В ближайшей перспективе предполагается патентование препаратов и способов их применения в культуре растительных клеток, в генетических исследованиях, в практической селекции и в сельскохозяйственном производстве.

Список литературы

1. Размахнин Е.П. (2017) Андрогенез *in vitro* у пырея сизого *Elytrigia intermedium* (под ред. Н.П. Гончарова). Новосибирск: АО «НИИ систем»; 144.
2. Razmakhnin E.P. et al. (2012) Raising highly frost-resistant *Agropyron–Triticum* hybrids. *Rus. J. Genetics: Appl. Res.* 2:344-351.
3. Razmakhnin E.P., Razmakhnina T.M. et al. (2010) Influence of medium, physical and genetic factors on haplomorphogenesis in anther culture of the wheatgrass *Agropyron glaucum* (Desf.). In: Abstr. of International Conference “Plant Genetics, Genomics and Biotechnology”, Novosibirsk, June 07–10, 2010; 76.
4. Размахнин Е.П., Размахнина Т.М. и др. (2001) Биостимулирующий эффект регуляторов роста на пшенице и пырее: Тез. докл. 6-й междунар. конф. «Регуляторы роста растений в биотехнологиях», Москва, 26–28 июня 2001 г. М.: Изд. МСХА; 269.
5. Размахнин Е.П., Размахнина Т.М. и др. (2009) Способ определения морозостойкости озимых зерновых культур. Пат. № 2370942; Приоритет изобретения 04.06.2008. Опубл. 27.19.2009. Бюл. № 30.

АНИОННАЯ ПЕРОКСИДАЗА В ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЯХ КАРТОФЕЛЯ ПРОТИВ БИОТИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

А.В. Сорокань*, Д.К. Благова, Г.В. Беньковская, И.В. Максимов

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

*e-mail: fourtyanns@googlegmail.com

Ключевые слова: пероксидаза, жасмоновая кислота, *Bacillus subtilis*, *Leptinotarsa decemlineata*, *Phytophthora infestans*, *Solanum tuberosum*

Мотивация и цели: Важнейшей проблемой в изучении защиты растений от биотических факторов среды является поиск интегральных, неспецифических биохимических механизмов, обеспечивающих их устойчивость к широкому спектру повреждений патогенами и фитофагами. Участие пероксидаз в устойчивости растений к различным стрессовым факторам показано неоднократно. Для использования в генетическом скрининге устойчивости растений либо в селекционной работе необходимо выяснение роли отдельных изоформ пероксидаз.

Методы и алгоритмы: Использовались пробирочные растения картофеля сортов Ранняя роза и Невский, а также линия *asAPO* с подавленной путем РНК-сайленсинга активностью анионной пероксидазы M21334.

Результаты: Нашими исследованиями было показано, что активация транскрипционной активности гена *M21334*, кодирующего анионную пероксидазу картофеля, и активности его белкового продукта путем обработки растений жасмоновой кислотой (ЖК), регулирующей устойчивость растений к некротрофным патогенам и фитофагам, или рост-стимулирующими бактериями *B. subtilis* 26Д способствует увеличению устойчивости растений к возбудителю фитофтороза. Кроме того, снижалась поврежденность таких растений колорадским жуком и увеличивалась смертность личинок и имаго колорадского жука после питания обработанными растениями.

Для выявления роли анионной пероксидазы в защитных реакциях растений нами была получена линия *asAPO*. В трансгенных растениях содержание перекиси водорода было снижено по сравнению с растениями дикого типа. Индуцированного возбудителем фитофтороза окислительного взрыва в них практически не наблюдалось, что было показано как биохимическими, так и цитохимическими исследованиями. Растения с подавленной активностью гена *M21334* были малочувствительны к ЖК. При этом обработка ловушкой для перекиси водорода приводила к сходным изменениям в растениях дикого типа, а экзогенная перекись водорода частично восстанавливала в них устойчивость к фитофторозу и транскрипционную активность ЖК-зависимых генов.

Заключение: Анионные пероксидазы играют важную роль в развитии ЖК-индуцируемых реакций растений на внедрение патогенов и повреждение фитофагами. Активность гена *M21334* и его продуктов могут быть маркерами: 1) устойчивости сортов; 2) эффективности стимуляторов устойчивости растений; 3) эффективности праймирующих устойчивость биологических препаратов.

Благодарности: Работа выполнена в рамках госзадания № 116020350027-7 и при частичной поддержке гранта Правительства РБ для молодых ученых № 16 от 10.04.17.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И АНАЛИЗ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА MYC ПШЕНИЦЕВЫХ

К.В. Стрыгина*, Е.К. Хлесткина

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: pushpandzhali@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: *bHLH*, *Hordeum*, *MYC*, *Triticum*, биосинтез флавоноидов, дивергенция генов, дупликация генов, фактор транскрипции

Мотивация и цели: Факторы транскрипции MYC, образующие с белками MYB и WD40 регуляторный комплекс MBW, необходимы для активации экспрессии структурных генов биосинтеза флавоноидов. У пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.) и ячменя обыкновенного (*Hordeum vulgare* L.) выявлены MYC-кодирующие гены, необходимые для синтеза флавоноидных пигментов – это *TaMycl* и *HvAnt2* соответственно. Целью настоящего исследования стали идентификация, сравнение и анализ полноразмерных последовательностей дублицированных копий данных генов.

Методы и алгоритмы: Поиск гомологичных последовательностей проводили в базах данных неаннотированных последовательностей ячменя и пшеницы с использованием алгоритма BLAST. Кластерный анализ с использованием программы MEGA был основан на алгоритме UPGMA. Анализ промоторов генов был осуществлен с базами данных PLACE и PlantCARE. Подбор праймеров для ПЦР, ОТ-ПЦР, количественной ПЦР и секвенирования производился при помощи OLIGO. Анализ паттернов метилирования нуклеотидных последовательностей был осуществлен с набором EpiTect Bisulfite Kit (QIAGEN) и последующим секвенированием амплифицированного продукта. Генетическое картирование *HvAnt2copy*-специфичного CAPS-маркера было осуществлено в популяции DOMxREC с использованием программы MAPMAKER.

Результаты: Мы идентифицировали 11 генов MYC во второй и четвертой гомеологических группах хромосом пшеницы и 22 MYC-подобных гена в геномах родственных видов. Для ячменя было выявлено 2 гена MYC во второй и четвертой хромосомах. Последний был точно нанесен на карту (тесно сцеплен с маркером *XBmac186-4H*). Экзон-интронная организация всех выявленных генов аналогична структуре *TaMycl* и *HvAnt2*. Была исследована транскрипционная активность обнаруженных генов в различных частях растений.

Заключение: В геноме ячменя было выявлено 2 гена MYC, в геноме пшеницы – 11 генов данного семейства. Анализ генетического сходства показал, что первая дупликация гена MYC произошла у общего диплоидного предка трибы Triticeae. Удалось обнаружить, что в ходе эволюции диплоидных предшественников пшеницы дупликации MYC происходили несколько раз. В целом полученные результаты свидетельствуют о том, что дублицированные гены биосинтеза флавоноидов поддерживаются благодаря функциональной специализации копий.

Благодарности: Работа частично поддержана грантом РФФИ (16-04-00912) и Программой РАН «Молекулярная и клеточная биология» (0324-2015-0016).

SCREENING OF BREAD WHEAT ACCESSIONS OF AZERBAIJAN USING KASP MARKERS

M.A. Abbasov

Genetic Resources Institute of ANAS, Baku, Azerbaijan

e-mail: mehraj_genetic@yahoo.com

Key words: KASP, SNP, *LR34*, *GluD1*, bread wheat

Motivation and Aim: Modern plant breeding increasingly uses SNP markers to detect new traits in F_1 and later generations. One of the cost-effective and rapid techniques for the validation of SNP markers is the Kompetitive Allele Specific PCR (KASP) [1]. At present, a library of validated KASP markers for key crops, including wheat is publicly available. Among the cereals, the wheat genome is concerned as one of the least polymorphic, in which the SNP detection frequency is about 2.3–3.1 times lower than that of barley [2]. Thus the use of high-throughput genotyping methods leading to explosion of single nucleotide polymorphism sequence data from wheat genome is crucial. The aim of the current study was screening of bread wheat genotypes using KASP genotyping method and detection of potential SNP markers for varietal improvement.

Methods and Algorithms: Eleven KASP SNP assays were used for screening 171 bread wheat samples of Azerbaijan origin. SNP genotyping was performed using LGC's KASP genotyping chemistry, the run was performed on the LGC SNPlane to provide baseline data.

Results: All the genotypes were found to be susceptible as a result of screening for *LR 21*, *Tsn* and *Sr2* SNP markers. Leaf rust resistance (*Lr34*) was present in 17 genotypes, including 1 local variety Seba. Only one genotype of v. *barbarosa* had *FHB* gene located in 3B chromosome, while *FHB 5B* exhibited relatively higher frequency and was found in ~30 % of all samples tested. Fifty one genotypes were found to have either *RhtB1* or *RhtD1* SNP markers for reduced height. The presence of both alleles which leads to a detrimental decrease in yield was not recorded in the studied collection. High frequency of photoperiod gene *PpdD1*, which has a positive association with increased ear growth, was observed across the wheat collection. More than half of genotypes carried photoperiod-insensitive alleles. Grain protein content (GPC) is one of the most important quality factors; however breeding for an increase in GPC is difficult because the genetic variation for this character is small. In this study, one genotype was positive for the GPC and characterized with increased protein content. Good starch quality was noted in 33 accessions, including 4 local varieties, as confirmed with the presence of *GluD1* gene.

Conclusion: So, as a result of screening 171 bread wheats for 11 KASP markers associated with quality, yield and disease resistance the presence of some of them in certain part of accessions was observed. Selected genotypes are planned to be used for creation of new varieties with resistance to the disease and higher quality.

References

1. Semagn K. et al. (2014). Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP): overview of the technology and its application in crop improvement. *Mol. Breeding*. 33: 1-14.
2. Shavrukov Y.N. (2015) CAPS markers in plant biology. *Vavilov J. Genetics Breeding*. 19:205-213.

GENES FOR WHEAT INFLORESCENCE ARCHITECTURE: STRUCTURE, FUNCTION AND EVOLUTION

O.B. Dobrovolskaya^{1*}, P. Martinek², M.P. Ponomarenko¹, A.F. Muterko¹, Y. Amagai³,
A.A. Krasnikov⁴, E.D. Badaeva⁵, K.I. Popova¹, Y.L. Orlov^{1,6}, J. Salse⁷, N. Watanabe³

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

² Agrotest Fyto, Ltd., Kroměříž, Czech Republic

³ College of Agriculture, Ibaraki University, Ibaraki, Japan

⁴ Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia

⁵ Central Siberian Botanical Garden SB RAS, Novosibirsk, Russia

⁶ Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

⁷ INRA-UBP UMR-1095, Clermont – Ferrand, France

*e-mail: oxanad@bionet.nsc.ru

Key words: wheat, inflorescence development, inflorescence architecture, gene mapping, gene cloning, SEM

Motivation and Aim: Wheat is one of the most important crops in the world. It is the staple food for 30 % of the world population. The solution of practical problems of modern plant breeding and the establishment of the technological groundwork is impossible without the new fundamental knowledge about the structural-functional organization of the plant genome, without understanding the molecular-genetic mechanisms underlying the formation of agronomic traits. Studies about the genetic regulation of wheat inflorescence (the spike) development can allow scientists to design new spike architectures with the goal of enhancing grain production. The aim of this research is identification and study on genetic factors that regulate the wheat inflorescence development and determine the spike architecture.

Methods and Algorithms: Wheat mutants with altered spike morphology were characterized using methods of classical genetics, modern methods of plant genome analysis, light and scanning electron microscopy, which led to identification of new major genes and QTLs that determine wheat inflorescence architecture.

Results: Wheat *FRIZZY PANICLE (WFZP)*, one of the key regulators of wheat inflorescence development, which drive the supernumerary spikelet (SS) trait, were isolated in A-, B- and D-genomes of di-, tetra- and hexaploid wheats. Structural and functional characterization of *WFZP* was performed, in which coding and null mutations were associated with the SS spike phenotype. Bioinformatic analysis revealed the presence of statistically significant putative AuxREs in the *WFZP* regulatory region. Moreover, QTLs for multifloret “flabellum” spike phenotype, yield-related spike characteristics (spike length, number of grain per a spike, grain weight etc.) were identified and mapped on the wheat chromosomal maps using high-throughput genotyping SNP-platform.

Acknowledgements: This work was supported by IC&G Budgetary Project no. 0324-2016-0001 and grant from Russian Foundation for Basic Research (Project 15-04-05371a).

CHARACTERIZATION OF THE CENTROMERIC HISTONE H3 (CENH3) IN GENUS *SECALE* AND ITS PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS

E.V. Evtushenko^{1*}, E.A. Elisafenko², S.S. Gatzkaya¹, Y.A. Lipikhina¹, A. Houben³, A.V. Vershinin¹

¹ Institute of Molecular and Cellular Biology SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

³ Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Gatersleben, Germany

*e-mail: evt@mcb.nsc.ru

Key words: rye, *CENH3*, gene duplication, selection, evolution

Motivation and Aim: Rye (*Secale*) is a small genus that includes the species adapted to a wide range of abiotic and biotic stresses and possessing two types of pollination system. Traditional rye varieties are panmictic populations displaying high levels of heterozygosity and heterogeneity, which might have resulted from outcrossing pollination and facilitated interspecies hybridization. We aimed to study the molecular structure of genes encoding centromere-specific histone H3 (*CENH3*), a key component of centromere specification and function, in 14 *Secale* species and subspecies and their phylogenetic relationships with species in their most closely related genera, *Triticum* and *Hordeum*.

Methods and Algorithms: We cloned and sequenced the *CENH3* genes from 14 species and subspecies across *Secale*. To determine the extent of *CENH3* evolution, we compared Ka/Ks (nonsynonymous/synonymous substitutions) ratios for all coding sequences of a species within genus *Secale* and between other genera using DNAsp. We used the mixed effects model model of evolution (MEME) to evaluate selection at the codon level in genus *Secale*.

Results: Diploid rye encodes two paralogous *CENH3* genes, which are transcribed into two main forms α *CENH3* and β *CENH3*. They differ in size, intron-exon structure and amino acid substitutions and originated from a duplication event in the common ancestor before the barley and wheat-rye lineages split. A sequence alignment of *CENH3* from *Secale* species and subspecies display a surprisingly high level of similarity, despite the differences that they have in morphology, life-cycle duration and pollination systems as well as environmental and growing conditions. The *CENH3* proteins are strictly controlled by genetic factors responsible for purifying selection. Diversifying selection operates at a very few sites in cross-pollinating rye species. In contrast, considerable differences between *Hordeum* species suggest that the *CENH3* are rapidly evolving in this genus. A comparison between *Hordeum*, *Secale* and *Triticum* species demonstrates that the structure of *CENH3* in the subtribes Hordeinae and Triticinae evolved at different rates. The high similarity between rye and wheat *CENH3*s is indicative of an evolutionary stability and conservation of the genetic factors that control the *CENH3* structure in the subtribe Triticinae. The assumption that multiple cycles of remote hybridization and attendant domestication served as a factors stabilizing the *CENH3* structure and that these factors were more powerful within *Secale* and *Triticum* than in *Hordeum*, will be discussed.

Acknowledgements: The work was supported by fundamental scientific research program on the project 0310-2016-0005 and RFBR grant 17-04-00748 A.

ORGANIZATION AND EVOLUTION CHALCONE SYNTHASE GENE FAMILY IN BREAD WHEAT AND RELATIVE SPECIES

A. Glagoleva^{1,2*}, E. Khlestkina^{1,2}

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

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

*e-mail: glagoleva@bionet.nsc.ru

Key words: *Chs* gene, chalcone synthase, gene duplication, flavonoid biosynthesis

Motivation and Aim: Gene duplication followed by sub- or neofunctionalization is of substantial evolutionary importance. Homoeologous gene copies can appear due to polyploidization, while paralogous copies can be generated by segmental duplication. In allohexaploid wheat *Triticum aestivum* both homoeologs and paralogues of the same gene can be found. Multiple *Chs* gene copies, encoding one of the key enzyme of flavonoid biosynthesis, chalcone synthase, have been not characterized in wheat yet. The aim of the current study was to investigate structural and functional organization of *Chs* gene family and its evolution in wheat species.

Methods and Algorithms: Homologous sequences search was performed using BLAST algorithm in three databases (<https://urgi.versailles.inra.fr/blast/blast.php>, http://www.cerealsdb.uk.net/cerealgenomics/CerealsDB/search_reads.php, www.ncbi.nlm.nih.gov/Database/) within genomic sequences of *T. aestivum* and its tetraploid (*T. durum*) and diploid (*T. monococcum*, *T. urartu*, *Aegilops speltoides*, *Ae. sharonensis*, and *Ae. tauschii*) relatives. Missing part of sequence of one copy was sequenced using ABI 3130XL analyser. Multiple sequence alignment was done with MULTALIN 5.4.1. Cluster analysis was performed with MEGA v6.06 software using Neighbor-Joining algorithm. PrimerQuest Tool (<https://eu.idtdna.com/Primerquest/Home/Index>) was used to design a set of copy-specific primer pairs, which were exploited for PCR from DNA of nulli-tetrasomic and deletion lines and RT-PCR from cDNA for pericarp, coleoptile and root.

Results: The nucleotide sequences of the five *Chs* copies in *T. aestivum* were identified. Among them two homologous gene copies in A- and D-genomes (*Chs-A1* and *Chs-D1*) and three paralogous gene copies in B-genome (*Chs-B1*, *-B2*, *-B3*). It was shown that all *Chs* gene copies are located on the distal regions of 2AS, 2BS and 2DS chromosomes. All copies with the exception of *Chs-B2* transcribed in colored pericarp and coleoptile, but they were not transcriptionally active in colorless pericarp and root. *Chs-B2* was transcribed in colored coleoptile only. To clarify the origin of paralogous *Chs* duplications in the B genome, we compared sequences of *Chs* genes in different *Triticum* and *Aegilops* species and calculated the time of divergence of the paralogues.

Conclusion: First *Chs* duplication event took place in common ancestor of *Triticum* and *Aegilops* about 10 MYA, then one of the copies was again duplicated 6–7 MYA in the ancestor of the B-genome, while other copy likely pseudogenized in *T. aestivum* 2A and 2D chromosomes. All 5 *T. aestivum* were transcriptionally active, however one of the B-genomic copies demonstrated functional divergence from others.

Acknowledgements: The study was partially supported by RFBR (16-04-00912).

WRKY33 IS INVOLVED IN PLANT RESPONSES TO ELEVATED SALT CONCENTRATION AND WATER DEFICIT

H.R. Jafarov^{1*}, K.G. Gasimov^{2**}

¹ Khazar University, Baku, Azerbaijan

² Institute of Biophysics, ANAS, Baku, Azerbaijan

*e-mail: huseyncafarov@gmail.com; **e-mail: karim.gasimov@science.az

Key words: transcription factors, abiotic stress, cloning, *Solanum lycopersicum*

Motivation and Aim: The drought and high salinity are major abiotic stress factors affecting plant growth and development and can lead to serious yield losses to crops. Nearly in all plants, most of reactions to biotic and abiotic stresses are controlled at the level of transcription of certain genes that is regulated by transcription factors. WRKY genes family is important superfamily involved in plant responses to the effect of environmental stressors. The members of WRKY family are involved in a signaling systems related abscisic and salicylic acids [1], as well as signals linked to DREB genes [2]. In this study, the gene WRKY33 designated as SIWRKY33 from the family of WRKY was isolated and characterized from tomato plant (*Solanum lycopersicum* L.).

Methods and Algorithms: Putative sequence of full-length cDNA for gene SIWRKY33, 1938 bp were obtained on the basis of the reverse transcriptase and subsequent PCR reaction was cloned into the binary vector pBluescript SK (–). The derived full length sequence of SIWRKY33 contained 1590 bp ORF, which encodes a protein of 529 amino acid residues [3].

Results: According to the number and structure of WRKY domains the SIWRKY33 belongs to the WRKY I group. The expression pattern of SIWRKY33 in various tomato tissues were examined by RT-PCR and PCR reactions. Transcripts were detected in most examined tissues, whereas the expression level in different tissues varied. The highest level of expression was manifested in the young leaves and apical part of the shoots. Based on this, further studies were carried out on these tissues. To study the expression pattern of the genes SIWRKY33 under water deficit and elevated salt concentration the Northern hybridization of total RNA fraction in situ hybridizations were used. Digoxigenin labeled specific DNA probes for Northern hybridization, and sense and antisense RNA probes for *in situ* hybridizations from SIWRKY33 gene were synthesized on the sequence of first conserved WRKY domain of cDNA for SIWRKY33, where the length of the used DNA fragment was 750 bp starting from the start codon.

Conclusion: The obtained results showed strong expression of SIWRKY33 when plants exposed to elevated sodium chloride concentration and water deficit (drought) in the growing medium.

Acknowledgements: This work was supported by Science and Technology Center of Ukraine, Project #6154 and partially by Azerbaijan National Academy of Sciences.

References

1. Yang B. et al. (2009) Identification and expression analysis of *WRKY* transcription factor genes in canola (*Brassica napus* L.) in response to fungal pathogens and hormone treatments. *BMC Plant Biology*. 9:68. doi:10.1186/1471-2229-9-68.
2. Li H. et al. (2013) *ZmWRKY33*, a WRKY maize transcription factor conferring enhanced salt stress tolerances in *Arabidopsis*. *Plant Growth Regul.* 70:207-216.
3. Гасымов К.Г., Наджафова Л.А. (2014) SIWRKY33 способствует толерантности растений томата к солевому стрессу и засухе. *Физиология растений и генетика*. 46(5):385-394.

CRISPR/Cas FOR PLANT DOMESTICATION AND BREEDING

E.K. Khlestkina*, A.M. Korotkova, S.V. Gerasimova, K.A. Ivanova,
A.V. Kochetov, V.K. Shumny

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

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

Key words: *genome editing, gene knockout, negative regulators, domestication genes*

Motivation and Aim: The CRISPR/Cas system is the most promising among genome editing tools. It can provide the development of modified nontransgenic plants with the possibility of simultaneous multiple targeted mutations. The purpose of this study was a systematic review of published papers describing the utilization of the CRISPR/Cas system for crop gene modification. We assess the potential of this technology for development of new cultivars as well as newly domesticated plants and even new crops.

Methods and Algorithms: The search for “CRISPR & crop name” within article titles, abstracts and keywords in the Scopus database was carried out for 45 crops. In addition, we analyzed results of the search “domestication gene & crop name” for a number of important crops.

Results: Among a total of 206 search results for “CRISPR & crop name”, only 88 have been recognized as original articles describing editing crop genes with the CRISPR/Cas system. A total of 145 target genes of 15 crops are described in these 88 articles, including rice with the largest number of genes modified (78 genes). In these studies, the ability to get transgene-free modified plants was widely demonstrated. However, in most cases research was aimed at the approbation of the technology or was to elucidate target gene function, while modification of just 37 target genes was related with crop improvement. In most of these cases, modifications resulted in knockout of the genes such as negative growth and development regulators or negative regulators of plant resistance. Analysis of literature for domestication genes showed that crop domestication was due to mutations in a few genes, and these genes are well known for the main crops.

Conclusion: Application of CRISPR/Cas for gene knockout (a total of 37 genes) was successfully used for improvement of 11 crops. To provide a basis for broader practical application of this technique in plant breeding, more intensive use of other gene modifications (such as replacement of defect alleles by functional ones or insertion of a desired gene) is required and more genotypes should be involved in ongoing studies. In order to facilitate the use of wild relatives genepool in plant breeding, CRISPR/Cas can be applied for directed mutagenesis of “domestication” genes in their genomes, resulting in newly domesticated plants. For development of new crops with the help of CRISPR/Cas more information is needed about genomes and genes of the candidates for domestication.

Acknowledgements: This work was supported by the Russian Science Foundation (No. 16-14-00086).

FEATURES OF *PPD-B1* EXPRESSION REGULATION AND THEIR IMPACT ON THE FLOWERING TIME OF WHEAT NEAR-ISOGENIC LINES

A.A. Kiseleva*, E.A. Salina

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

*e-mail: antkiseleva@bionet.nsc.ru

Key words: photoperiod sensitivity, flowering time, *Ppd-B1*, phytochrome, wheat

Motivation and Aim: Photoperiod insensitive *Ppd-1a* alleles determine early flowering of wheat. Increased expression of homoeologous *Ppd-D1a* and *Ppd-A1a* result from deletions in the promoter region, and elevated expression of *Ppd-B1a* is determined by an increased copy number. The aim of the current investigation was to study the *Ppd-B1* photoperiod insensitive allele with an increased number of copies and characterize the functional specifications of this allele and its interaction with other photoperiod genes.

Methods and Algorithms: PCR analysis, molecular cloning and sequencing were used for the characterization of the *Ppd-B1* sequence. To analyze the diurnal expression of genes that regulate the heading date, qPCR with SYBR Green I was performed. The PlantPAN 2.0 database was used to determine the putative plant transcription factor binding sites.

Results: In this study, using differing in photoperiod sensitivity near-isogenic lines, designated “Ppd-m” and “Ppd-w”, we investigated the putative factors that influence *Ppd-B1a* expression. By analyzing the *Ppd-B1a* three distinct copies, we identified an indel and certain SNPs, which distinguished the investigated allele from other alleles with a copy number variation.

We studied the expression of the *Ppd-A1*, *Ppd-B1a*, and *Ppd-D1* genes along with genes that are involved in light perception (*PhyA*, *PhyB*, *PhyC*) and the flowering transaction (*Vrn-1*, *TaFT1*) and discussed their interactions. Expression of *Ppd-B1a* in the “Ppd-m” line, which flowered four days earlier than “Ppd-w”, was significantly higher. We found *PhyC* to be up-regulated in lines with *Ppd-B1a* alleles. Expression of *PhyC* was higher in “Ppd-m”. Microsatellite genotyping demonstrated that the locus on the 5B chromosome was different in “Ppd-m” and “Ppd-w”, suggesting that the transcription factor *FHY3/FAR1* from the 5B pericentromeric region is important for the flowering time. Thus, we propose that there is a positive bidirectional regulation of *Ppd-B1a* and *PhyC* with an *FHY3/FAR1* contribution.

The same hypothesis can be proposed for *Ppd-A1a* and *Ppd-D1a*. Using *in silico* analysis, we demonstrated that the specificity of the *Ppd-B1* regulation compared to that of homoeologous genes involves not only a copy number variation but also distinct regulatory elements.

Conclusion: This study characterized the specifications of photoperiod insensitive *Ppd-B1a* and the putative mechanisms of its regulation as well as discussed its interaction with other photoperiod genes.

Acknowledgements: This study is supported by Russian Scientific Foundation grant No. 14-14-00161.

LIFE HISTORY PLASTICITY IN LARGE WINTER CEREAL GROUP AND SHARP INCREASING OF WINTERHARDINESS OF FLEXIBLE (“WINTER-SPRING”) PLANTS

V.E. Kozlov

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

e-mail: kozlov@bionet.nsc.ru

Key words: *winterhardiness, life history plasticity, epigenomic shock*

Motivation and Aim: Life history plasticity have been explored in the group of winter cereals from Krasnodar (south of Russia) to obtain isogenic life history (ILH) lines useful in winterhardiness exploration.

Methods: Winter cereals were assessed in one autumn and two spring sowings [1]. Sowings were planted near Novosibirsk (West Siberia) on acid soil with low fertility without fertilizer application in accordance with sustainable agriculture.

Results: In the first spring sowing early in the spring 29 accessions developed up to 54.5 % of fertile plants. These were sown late in the spring and only 15 accessions developed fertile offsprings. In both spring generations part of plants was at the stage of tillering or rosette of leaves at the harvesting in the fall. Surprisingly, in the second case such plants from 28 accessions survived during winter as domestic winter cereals in spite of extremely unfavorable environment. The ability of these flexible (“winter-spring”) plants to survive was compromised by acid soil with low fertility, large overground plant sizes, cloudy rainy autumn, frequent night frosts after snow melting in spring. It resembles heterotic appearance of winterhardines in offsprings of Krasnodar winter accessions.

Conclusion: Fertile spring plants are ILH lines relative to their winter ancestors and possible spring cultivars. “Winter-spring” plants can give rise to cultivars suitable for sowing in summer and harvesting next year earlier traditional winter cereals [1]. It was supposed that winter accessions of wheat and arabidopsis as grass species may have common general mechanisms of adaptation during vegetative development. And under stressful conditions of autumn sowing and first spring one in Siberia on acid soil with low fertility accessions from Krasnodar accumulated many epialleles which induced epigenomic chock as described in arabidopsis. It resulted in heterosis in winterhardiness of flexible plants.

References

1. Kozlov V.E. et al. (2017) Seasonal life history plasticity of the group of winter wheat and triticale accessions and its relation with winterhardiness exploration. *Vavilov J. Genetics Breeding* (in press).

THE ROLE OF MERISTEM REGULATORS IN THE FORMATION OF ECONOMICALLY VALUABLE TRAITS IN PLANTS

L.A. Lutova, I.E. Dodueva, M. Azarakhsh, M.S. Gancheva
St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

At present, obtaining new data on plant developmental genetics can give impetus to the creation of valuable plant forms with altered development programs. It is shown that the appearance of a significant number of traits used in plant domestication is a consequence of mutations in genes encoding transcription factors (TFs) that regulate major development programs. The subject of our research is the study of the role of regulators of meristem development in the formation of economically valuable traits in cultivated plants. Meristems are tissues containing stem cell pools and which make the main contribution to histogenesis and organogenesis during the postembryonic period of higher plant development. Thus, the formation of many economically significant plant characteristics is directly dependent on the activity of meristems. The central role in the maintenance of meristems is played by the interaction of several groups of meristem-specific TF and phytohormones. E. g., one of the most important economically valuable traits in legumes is nodule formation in symbiosis with rhizobia, which is important both for activating the growth and development of the plant itself, and for enriching the soil with nitrogen. It was shown that one of the central regulators of bookmarking nodules and maintaining their meristems is the homeodomain-containing TF KNOX3, which belongs to the widely known family of KNOX meristem regulators. This is the first data on the role of the TF of the KNOX family in the development of root meristems. Direct targets of TF KNOX3 in the nodules of alfalfa and pea are *IPT* and *LOG* genes, regulating the biosynthesis of cytokinins. At present, the relationship of KNOX3 activity to the system of autoregulation of nodulation is studied. Another weakly studied economically valuable plant feature associated with the development of root meristems is the formation of a storage roots in root crops. On the model of the cultural and wild species of the genus *Raphanus*, it has been shown that some of the TF of the WOX family, as well as peptide phytohormones of the CLE family, are the central regulators of development of the storage root. In particular, the overexpression of the *CLE41* gene in wild radish causes in its storage root the appearance of a number of features characteristic of cultural radish; also in the root of cultural forms of *Raphanus*, there is activation of *CLE41* expression was revealed in comparison with the wild species of this genus. Perhaps the CLE41 peptide is the first example of a peptide hormone, the selection of forms with over-expression of which gave start to radish domestication. *Acknowledgements:* The studies are supported by the RSF grant 16-16-10011.

THE NOVEL WHEAT VERNALIZATION RESPONSE ALLELE *VRN-A1J* CONTAINS THE MOST KNOWN TYPES OF MUTATIONS IN *VRN-A1*

A.F. Muterko*, E.A. Salina

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

*e-mail: muterko@gmail.com

Key words: wheat, vernalization requirement, *VRN-A1* gene, polymorphism, new allele

The need for a prolonged exposure to low temperatures in order for plants to become competent to flower is determined by the vernalization requirement. Vernalization sensitivity is an important trait of wheat, determining the flowering time and yield through adaptability to a wide range of environment conditions that is an especially actual in wheat breeding in condition of changing climate. The vernalization response in wheat is largely controlled by the four *VERNALIZATION* genes. However the features of allelic distribution of the different *VRN* genes and their effect on the phenotype make *VRN1* the key in determination of vernalization requirement in polyploid wheat. *VRN1* genes possess no less than two regulatory regions, which are localized in the promoter and first intron. Furthermore, SNPs within exon-4 and exon-7 of *VRN-A1* are associated with modulation of such agronomic valuable traits as frost tolerance, vernalization requirement duration and flowering time of wheat. In addition, more than two copies of the recessive *vrn-A1* allele per genome can be represented in hexaploid wheat.

In present study, during investigation of the *VRN-A1* regulatory regions in polyploid wheat species the novel dominant *Vrn-A1j* allele (GenBank: KU738894) was identified in hexaploid wheat of *T. compactum*. Unlike most known *VRN-A1* alleles the 54 bp deletion within promoter of *Vrn-A1j* is localized 50 bp downstream the regulatory element known as VRN-box. Hence, activation of *Vrn-A1j* expression, without vernalization, likely determined by the alternative mechanisms, regulating transcription of the *VRN1* genes, which are associated with other regulating sites within promoter region. The coding sequence of *Vrn-A1j* contains polymorphism within exon-4 and mutant exon-7 that is not typical for any known dominant *VRN-A1* alleles. Furthermore, in contrast to the other dominant *VRN-A1* alleles, *Vrn-A1j* is likely associated with at least one recessive *vrn-A1* copy. So that accessions, carrying *Vrn-A1j* are characterized by at least two copies (mutant *Vrn-A1j* and intact *vrn-A1*) of *VRN-A1* per haploid genome. These mutations have a different effect on expression and function of *VRN-A1*.

Thus, we conclude that new dominant *Vrn-A1j* allele, combining mutations of three different types simultaneously (deletion within promoter region, SNPs in exon-4 and exon-7, copy number variation) is a unique object for fundamental studies of mechanisms of regulation and function of the *VRN1* genes, as well as a valuable genetic source for wheat breeding programs.

Acknowledgements: The study is supported by the SB RAS Integrated Program II.2P/VI.53-17.

NEW INSIGHT ON 5B WHEAT CHROMOSOME EVOLUTION BASED ON INTERSPECIES PHYSICAL AND GENETIC MAPPING

E.A. Salina^{1*}, E.M. Sergeeva¹, M.A. Nesterov¹, A. Kiseleva¹, Z. Frenkel², A. Korol²,
A.F. Muterko¹, IWGSC³

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

² University of Haifa, Haifa, Israel

³ International Wheat Genomic Sequencing Consortium

*e-mail: salina@bionet.nsc.ru

Key words: *Triticum dicoccoides*, *T. aestivum*, 5B chromosome, recombination suppression, wheat evolution

Motivation and Aim: The 5B chromosome of the common wheat is famous for the fact that its reorganization in the course of evolution had led to emergence of the Ph locus, which contributed to stabilization of the genome of wild emmer wheat *Triticum dicoccoides* and *T. aestivum* as well as other widespread allopolyploid *Triticum* species. A comprehensive study of the evolution of wheat chromosome 5B according to the genetic and physical mapping data and analysis of the primary structure of the chromosome regions that influence the ability of this chromosome to moderate recombination in interspecific *T. aestivum* × *T. dicoccoides* crosses is described.

Methods and Algorithms: The CS-5Bdic disomic substitution line, where the Chinese Spring (CS) 5B chromosome is replaced by the *T. dicoccoides* 5B chromosome, was used. Physical mapping of the common wheat 5B chromosome is conducted according to the IWGSC strategy for sequencing of the bread wheat. The genetic linkage map was constructed with MultiPoint software using 360 lines of F2 population from a cross of CS and CS-5Bdic genotyped with SSR and ISBP markers. Using 116 lines of the RICL population genotyped with SNP and SSR markers, the genetic linkage map was constructed with MultiPoint UltraDense software.

Results: The regions of considerable recombination suppression on the 5B chromosome maps of *durum/dicoccoides* and *aestivum/aestivum* have been identified by comparing to CS/CS-5Bdic and can be explained by the divergence between the analyzed tetraploid and hexaploid wheat accessions. The analysis of the primary structure based on physical mapping data of the studied regions of 5B *aestivum* and *dicoccoides* chromosomes demonstrates inversion, large insertions/deletions, extended clusters of 119.2 tandem repeats which differ studied homoeologous chromosomal regions of both species.

Conclusion: The detected regions of the 5B chromosome are actually the sites of rearrangements involved in the tetraploid–hexaploid evolutionary transition. Any suppression events have been undetectable in the region of the Ph locus, the emergence of which was associated with the evolutionary stage prior to or during formation of the wild emmer.

Acknowledgements: This study was supported by the RSF (No. 14-14-00161).

EVOLUTION OF *VRN-1* HOMOEOLOGOUS LOCI IN ALLOPOLYPLOIDS OF *TRITICUM* AND THEIR DIPLOID PRECURSORS

A.B. Shcherban^{1*}, A.A. Schischkina², K.V. Strygina¹, E.A. Salina¹

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

² Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia

*e-mail: atos@bionet.nsc.ru

Key words: *allopolyploid, alleles, vernalization, VRN-1 gene, promoter, first intron, diploid, tetraploid, Triticum*

There are two main evolutionary branches among allopolyploids in the genus *Triticum*: Emmer and Timopheevii. The first starts from the wild tetraploid *T. dicoccoides*, from which all the main cultural allopolyploids, including common hexaploid wheat (*T. aestivum*; BBAADD), derived. Timopheevii branch contains wild species *T. araraticum* (GGAA) and its domesticated spring form, *T. timopheevii*. Analysis of structural polymorphism of the *VRN-1* gene, the basic gene of the vernalization response, in the first tetraploid wheat species and presumed diploid donors of A and B(G)-genomes showed that in the first tetraploids the appearance of spring forms was associated with the emergence of a new dominant *VRN-1* alleles unrelated in origin with dominant alleles of the diploid progenitors, and a set of alleles in Emmer line is different from that of the Timopheevii line, indicating of independent origin of the spring growth habit in these branches of allopolyploids. In spring wheat *T. timopheevii* occurrence of this trait is associated, apparently, with the insertion of a miniature transposon (MITE) in the first intron of the *VRN-A1* locus. In *T. dicoccoides* spring forms are associated with deletions in the promoter (alleles *VRN-A1b* and *VRN-A1d*) and a large deletion in the first intron (allele *VRN-A1L*). It should be noted that in both cases the mutations affected, mainly, *VRN-A1* locus, whereas other homoeologous locus- *VRN-B1* (*G1*) remained unchanged in the majority of spring forms (*T. dicoccoides*), or mutations in it did not result to spring phenotype (Timopheevii; allele *VRN-G1a*). In the course of further evolution of allopolyploids derived from *T. dicoccoides*, as a result of the artificial selection carried out by human, there was a selection of dominant alleles of the other homoeologous loci (*VRN-B1*, *VRN-D1*), and their combinations optimal for different climatic conditions of growing.

Acknowledgements: This work was supported by the program of the Russian Scientific Foundation (No. 14-14-00161).

DIFFERENT EVOLUTIONARY PATTERNS OF THE UNIVERSAL FLAVONOID BIOSYNTHESIS PATHWAY GENES IN MONOCOT AND DICOT PLANT SPECIES

O.Yu. Shoeva^{1*}, A.Yu. Glagoleva^{1,2}, E.K. Khlestkina^{1,2}

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

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

*e-mail: olesya_ter@bionet.nsc.ru

Key words: flavonoid biosynthesis genes, monocots, dicots, selective pressure, structural genes

Motivation and Aim: We hypothesized that in universal metabolic genetic networks, such as flavonoid biosynthesis pathway, the specific features occurring in different taxa may result in different evolutionary patterns of the structural genes. The aim of the current study was to determine and compare synonymous and nonsynonymous substitution rates of the flavonoid biosynthesis genes in different plant taxa and ascertain the factors affecting the evolutionary patterns.

Methods and Algorithms: Nucleotide sequences of the flavonoid biosynthesis pathway genes of monocotyledons (*Zea mays*, *Oryza sativa*, *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum*, *Triticum urartu*, *Aegilops tauschii*, *Anthurium andraeanum*) and dicotyledons (*Arabidopsis thaliana*, *Arabidopsis lyrata*, *Vitis vinifera*, *Vitis amurensis*, *Solanum tuberosum*, *Malus domestica*) were retrieved from NCBI (ncbi.nlm.nih.gov/Database), URGI (urgi.versailles.inra.fr/blast/blast.php), or IPK-Gatersleben (webblast.ipk-gatersleben.de/barley) databases. Multiple sequence alignment was done with MULTALIN 5.4.1. Cluster analysis and Ka/Ks calculations were performed with MEGA v6.06 using Neighbor-Joining algorithm. Pearson's correlation was calculated between Ka/Ks ratio of the genes and numbers of flavonoids classes synthesized by the enzyme encoded.

Results: The nucleotide sequences of the genes encoding for CHS (chalcone synthase), CHI (chalcone-flavanone isomerase), F3H (flavanone 3-hydroxylase), F3'H (flavonoid 3'-hydroxylase), DFR (dihydroflavonol 4-reductase), and ANS (anthocyanidin synthase) were identified in monocot and dicot plant species. Validation of the orthologous genes sets was performed using phylogenetic analysis. To avoid sequences with rare SNP variants the alleles identified were compared with homologous ESTs. C- and N-terminus signal peptides were eliminated to avoid their affect on assessment of enzyme-encoding parts evolutionary rates. The species were compared pairwise for Ka/Ks ratios of each gene. In monocots, negative correlation between Ka/Ks ratios of the structural genes and numbers of flavonoid classes synthesized by the enzymes encoded was shown. The *Chi* gene doesn't meet this rule (due to possible spontaneous conversion of chalcones to flavanones the *Chi* gene may possess relatively low selective pressure in both monocots and dicots). In dicots, there are no correlation between Ka/Ks ratios and numbers of flavonoid classes synthesized by the enzymes encoded. Intraspecies comparisons (between wheat genomes A and D) revealed unexpectedly high selective pressure on the *F3h* gene, whose activation is crucial for the flavonoid pigments anthocyanins production.

Conclusion: (1) Monocot and dicot plants differ by evolutionary patterns of the universal flavonoid biosynthesis genetic network. (2) Unexpectedly high selective pressure on certain gene in some species is suggested to be an indirect evidence of importance of this target gene activation as a key regulatory point of the biosynthetic pathway in this species.

Acknowledgements: The study was supported by RFBR (grant No. 16-34-60052).

Сателлитный симпозиум

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ
ПАТОГЕНЕЗА ГЛАУКОМЫ**

Satellite symposium

**MOLECULAR GENETIC MECHANISMS
OF THE PATHOGENESIS OF GLAUCOMA**

РАСКРЫТИЕ ОБЩИХ МЕХАНИЗМОВ АГРЕГАЦИИ МУТАНТОВ БЕЛКА SOD1 С ПОМОЩЬЮ ЭЛАСТИЧНОГО СЕТЕВОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

Н.А. Алемасов*, В.А. Иванисенко

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: alemasov@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: боковой амиотрофический склероз, SOD1, агрегация, эластичные сетевые модели

Мотивация и цели: Одной из причин возникновения наследственной формы бокового амиотрофического склероза (БАС) является внутриклеточная агрегация белка SOD1 [1, 2]. В литературе имеются зачастую противоречивые сведения относительно молекулярных механизмов агрегации SOD1. Настоящая работа направлена на раскрытие общих для ряда мутантов SOD1 молекулярных механизмов его агрегации и развития БАС.

Методы и алгоритмы: Моделирование структуры SOD1 дикого типа и его мутантных форм проведено с использованием программы ElNemo (<http://www.sciences.univ-nantes.fr/elnemo/start.html>). С помощью пакета AMBER исследованы водородные связи, формирующиеся в белке. Структура графа водородных связей исследована с помощью модулей graph-tool и networkx для языка Python.

Результаты: Найдены водородные связи, стабильность которых в мутантах SOD1 достоверно ($p < 0.001$) коррелирует с продолжительностью жизни пациентов с соответствующими мутациями страдающих БАС. Обнаружены пути в графе водородных связей мутантов SOD1 от позиции, в которой произошла мутация к аминокислотным остаткам из сайта связывания иона цинка и меди, а также интерфейсу между субъединицами.

Заключение: Универсальным механизмом, приводящим к заболеванию БАС в результате мутаций в SOD1, может являться дестабилизация в мутантах аминокислотных остатков из сайта связывания иона цинка, цинк-связывающей и электростатической петли.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 15-04-0865 и 17-54-49004.

Список литературы

1. Kiernan M.C. et al. (2011) Amyotrophic lateral sclerosis. *Lancet*. 377(9769):942-955.
2. Tokuda E., Furukawa Y. (2016) Copper homeostasis as a therapeutic target in amyotrophic lateral sclerosis with SOD1 mutations. *Intern. J. Mol. Sciences*. 17(5):636.

АНАЛИЗ АССОЦИИ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ПОЛИМОРФИЗМОВ rs1048661, rs2165241, rs3825942 ГЕНА *LOXLI* С РАЗЛИЧНЫМИ ТИПАМИ ГЛАУКОМЫ У ПАЦИЕНТОВ ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Д.Е. Иванощук^{1,2*}, Е.О. Датских³, С.В. Михайлова¹, А.Ж. Фурсова¹,
Н.А. Коновалова³, И.Ю. Бычков⁴, О.С. Коновалова³, М.И. Воевода^{1,2},
А.Г. Ромащенко¹

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² НИИ терапии и профилактической медицины СО РАМН, Новосибирск, Россия

³ Тюменский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения РФ, Тюмень, Россия

⁴ МНТК Микрохирургия глаза им. С.Н. Федорова Минздрава России, Новосибирский филиал, Новосибирск, Россия

*e-mail: dinara@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: *первичная открытоугольная глаукома, псевдоэксфолиативная глаукома, пигментно-дисперсионный синдром, ген LOXLI, однонуклеотидные полиморфизмы*

Введение: Глаукома является хроническим нейродегенеративным заболеванием глаза, вызванным дегенерацией аксонов ганглиозных клеток сетчатки и последующей гибелью нейронов. Существуют различные типы заболевания. Возникновение глаукомы носит мультифакториальный характер, т.е. проявление заболевания зависит от различных факторов среды и генетической предрасположенности индивида. Целью данного исследования является оценка возможной ассоциации полиморфизмов rs1048661, rs2165241 и rs3825942 гена *LOXLI* с открытоугольной глаукомой (ОУГ) и пигментной глаукомой (ПГ).

Материалы и методы: В исследование взята выборка пациентов с ОУГ (первичной открытоугольной (ПОУГ) и псевдоэксфолиативной (ПЭГ) глаукомами) и ПГ, всего 433 человека. Группу контроля составили здоровые по исследованному заболеванию (312 человек).

Результаты: Сравнение частот генотипов и аллелей между группами контроля и пациентов с ПГ по исследованным полиморфизмам гена *LOXLI* не выявило статистически значимых отличий. При сравнении частот генотипов в группах ПОУГ и ПЭГ по сравнению с контролем по полиморфизму rs2165241 выявлены статистически значимое увеличение частоты гомозиготного генотипа TT vs TC+CC ($p < 0.0001$ для ПОУГ и $p < 0.0001$ для ПЭГ). По полиморфизму rs1048661 достоверно чаще встречается гомозиготный генотип GG vs TG+TT у пациентов с ПОУГ ($p = 0.004$) и ПЭГ ($p = 0.005$). Статистически значимое увеличение носителей варианта GG vs GA+AA ($p < 0.0001$ для ПОУГ и $p < 0.0001$ для ПЭГ) по полиморфизму rs3825942 наблюдалось в группах пациентов с ПЭГ и ПОУГ по сравнению с контролем.

Заключение: Показано, что исследованные полиморфизмы rs1048661, rs2165241 и rs3825942 гена *LOXLI* не ассоциированы с развитием пигментной глаукомы в исследованной группе пациентов. Доказана ассоциация полиморфизмов rs1048661, rs2165241 и rs3825942 гена *LOXLI* с повышенной вероятностью формирования ПОУГ и ПЭГ у пациентов Западной Сибири.

ПОИСК ГЕНОВ, ОТВЕТСТВЕННЫХ ЗА КОМОРБИДНОСТЬ ПЕРВИЧНОЙ ОТКРЫТОУГОЛЬНОЙ ГЛАУКОМЫ И ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ, С ПОМОЩЬЮ СТРУКТУРНОГО АНАЛИЗА ГЕННЫХ СЕТЕЙ

Е.С. Тийс*, О.В. Сайк, В.А. Иванисенко

ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: tiys@bionet.nsc.ru

Ключевые слова: *генные сети, глаукома, ретинопатия, эндотелиальная дисфункция*

Мотивация и цели: Коморбидность заболеваний представляет собой статистически значимую тенденцию к совместному проявлению двух или более заболеваний у пациента. Ранее для первичной открытоугольной глаукомы (ПОАГ) и диабетической ретинопатии (ДР) [1] и для других пар коморбидных заболеваний [2] было показано, что число общих генов статистически значимо больше, чем для случайных пар заболеваний. Целью нашей работы было подтверждение наличия коморбидности ПОАГ и ДР на уровне генных сетей и поиск генов-участников.

Методы и алгоритмы: Для реконструкции генной сети была использована система ANDSystem [3]. Наличие коморбидности подтверждалось сравнением сети общих для ПОАГ и ДР генов по количеству связей со случайными сетями. Для построения случайных сетей был использован алгоритм пермутации вершин с контролем распределения степеней вершин. Значимость рассчитывалась с помощью одностороннего одновыборочного t-критерия, параметры которого определялись по распределению числа связей в сетях, полученному по 100 пермутациям. Коэффициент специфичности вершины к сети рассчитывался как отношение числа вершин, смежных с данной вершиной в рассматриваемой сети, к числу таких вершин в глобальной сети межгенных взаимодействий человека.

Результаты: С помощью системы ANDSystem мы нашли 15 генов/белков, ассоциированных как с ПОАГ, так и с ДР. Мы реконструировали сеть взаимодействий между данными генами/белками и показали, что эта сеть отличается от случайных по числу связей ($p = 2.53e-07$). Максимальный коэффициент специфичности был найден для белка EDN1, что согласуется с ранее обнаруженной перепредставленностью эндотелиальной дисфункции в группах генов заболеваний коморбидных ПОАГ [1].

Заключение: Результаты данной работы свидетельствуют о рациональности подхода поиска генов, лежащих в основе явления коморбидности заболеваний, среди генов, ассоциированных с обоими заболеваниями.

Список литературы:

1. Saik O.V. et al. (2016) Molecular associations of Primary Open-Angle Glaucoma with potential comorbid diseases (POAG-associome). *Biotechnologia Aplicada*. 33:3201-3206.
2. Glotov A.S. et al. (2015) Molecular association of pathogenetic contributors to pre-eclampsia (pre-eclampsia associome). *BMC Syst. Biol.* 9:S4.
3. Ivanisenko V.A. (2015) ANDSystem: an Associative Network Discovery System for automated literature mining in the field of biology. *BMC Syst. Biol.* 9:S2.

ANDSYSTEM: A TOOL FOR AUTOMATED LITERATURE MINING IN THE AREA OF BIOLOGY AND BIOMEDICINE

V.A. Ivanisenko*, O.V. Saik, E.S. Tiys, T.V. Ivanisenko, P.S. Demenkov

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

PBSoft LLC, Novosibirsk, Russia

**e-mail: salix@bionet.nsc.ru*

Key words: *text mining, data mining, ANDSystem, ANDVisio, ANDCell, gene networks, pathways*

Motivation and Aim: The number of publications in the areas of biology, medicine, and biotechnology increases dramatically, which makes imperative computer-based analysis. To date, over 26 million abstracts highly relevant to biology and medicine are stored in the PubMed database and this number keeps growing. To address the confounding problem of extraction of information on molecular-genetic objects from texts, approaches based on algorithms such as search for co-occurrence of the biological object names in texts, linguistic-semantic analysis of texts, and machine learning have been suggested. Previously we have developed the ANDSystem package that incorporates utilities for automated extraction of knowledge from Pubmed published scientific texts and databases [1, 2]. The goal of this work was a development of a new version of ANDSystem supplied with extended utilities for automated extraction of knowledge and associative gene networks reconstruction related to the studied phenotypic trait or biological process.

Results: ANDSystem was developed for the purpose of scanning literature for extracting relationships between diseases, pathways, proteins, genes, microRNAs and metabolites. The ANDSystem database contains information on molecular-genetic events retrieved from texts and external databases. ANDVisio is a user's interface to the ANDCell, it provides graphic visualization, editing and search features as well as possibilities to save an associative gene networks in different formats resulting from user's request. Such networks describe semantic relationships between molecular-genetic objects (proteins, genes, metabolites and others), biological processes, and diseases. ANDVisio is provided with various tools supporting automated reconstruction of associative networks with taking into account the specific relation of objects in the network to the studied phenotypic trait or biological process limiting uncontrolled network expansion. The ANDSystem can assist in the interpretation of complex multifactorial experimental data.

Acknowledgements: This work was supported from Russian Science Foundation grants No. 14-44-00011 and by the Germany-Ukraine-Russia VW grant.

References

1. Demenkov P.S. et al. (2011) ANDVisio: a new tool for graphic visualization and analysis of literature mined associative gene networks in the ANDSystem. *In silico Biology*. 11:149-61.
2. Ivanisenko V.A. et al. (2015) ANDSystem: an Associative Network Discovery System for automated literature mining in the field of biology. *BMC Syst. Biol.* 9(Suppl.2):S2.

RECONSTRUCTION OF GENE NETWORKS ASSOCIATED WITH PRIMARY OPEN-ANGLE GLAUCOMA BY ANDSYSTEM

O.V. Saik^{1*}, P.S. Demenkov¹, O.S. Konovalova², N.A. Konovalova², N.A. Kolchanov¹, I.N. Lavrik³, V.A. Ivanisenko¹

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

² Tyumen State Medical Academy, Ministry of Health of the Russian Federation, Tyumen, Russia

³ Otto von Guericke University Magdeburg, Magdeburg, Germany

*e-mail: saik@bionet.nsc.ru

Key words: primary open-angle glaucoma (POAG), apoptosis, ANDSystem, gene networks, comorbidity

Motivation and Aim: Primary open angle glaucoma (POAG) often causes the irreversible blindness affecting over 44 million people worldwide. In POAG patients the degradation of retinal ganglion cells occurs mostly via apoptosis [1]. Such diseases as hypertension, diabetes and obesity are well-known comorbid to POAG. However, the problem of comorbid diseases is still not fully clarified. The aim of this study was to propose potential comorbid disease for POAG and to investigate the role of apoptotic genes in the POAG gene network.

Methods and Algorithms: Genes associated with POAG were extracted from OMIM, ClinVar, GWAS, SNPedia databases and ANDSystem [2]. Gene networks of POAG and apoptosis were reconstructed by ANDSystem. “dhyper” function from R package “stats” was used to calculate enrichment of common genes in POAG and other diseases to assess potential comorbidity. The betweenness centrality of apoptotic genes in the POAG gene network was assessed by R package “igraph”.

Results: An automated analysis of databases and scientific publications allowed to form a list of 96 genes associated with POAG. The gene ontology enrichment analysis revealed that POAG genes are involved in extracellular matrix organization, angiogenesis, apoptosis and other. It was shown that 348 diseases were statistically significantly enriched by common genes with POAG. Analysis of node centrality of associative gene network revealed key genes involved in POAG and most part of them participated in apoptosis.

Conclusion: It was shown that genes involved in apoptosis have the key role in the POAG gene network. A list of 348 potential comorbid disease for POAG was proposed.

Acknowledgements: This work was supported from Russian Science Foundation grants No. 14-44-00011 and by the Germany-Ukraine-Russia VW grant.

References

1. Lindner E. et al. (2015) Analysis of functional polymorphisms in apoptosis-related genes in primary open angle glaucoma. *Mol. Vision*. 21:1340.
2. Ivanisenko V.A., Saik O.V., Ivanisenko N.V., Tiys E.S., Ivanisenko T.V., Demenkov P.S., Kolchanov N.A. (2015) ANDSystem: an Associative Network Discovery System for automated literature mining in the field of biology. *BMC Syst. Biol.* 9(Suppl.2):S2.

Сателлитный симпозиум

**БИОМЕДИЦИНА В НЕЙРОБИОЛОГИИ:
СИМПТОМЫ, ДИАГНОСТИКА И ЛЕЧЕНИЕ**

Satellite symposium

**BIOMEDICINE IN NEUROSCIENCE:
SYMPTOMS, DIAGNOSIS, AND TREATMENT**

EFFECTS OF CEFTRIAXONE ON COGNITIVE AND NEUROMOLECULAR DISTURBANCES IN MOUSE GENETIC MODEL OF PARKINSON'S DISEASE

T.G. Amstislavskaya^{1,2,3*}, V.M. Belichenko¹, L.A. Fedoseeva^{1,2}, A.S. Ryzhkova³, Y.J. Ho⁴, M.A. Tikhonova^{1,3}

¹Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine, Novosibirsk, Russia

²Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

³Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

⁴Chung Shan Medical University, Taichung, Taiwan R.O.C.

*e-mail: amstislavskayatg@physiol.ru

Key words: amyloid-degrading enzymes, gene expression, Alzheimer's disease, rats

Motivation and Aim: Parkinson's disease (PD) is a widespread incurable neurodegenerative disease. In addition to specific motor disturbances, cognitive dysfunction often occur in PD patients, and it is quite important to study those deficits in animal models. Ceftriaxone (CEF) is a safe and multipotent agent that has been used for decades as an antimicrobial drug. Recently we obtained promising results on its neuroprotective properties in MPTP-induced PD rat model including the restoration of cognitive deficits [Ho et al., *Behav. Brain Res.*, 2014; Weng et al., *Behav. Brain Res.*, 2016]. This study was aimed to investigate the effects of CEF administration on cognitive impairment and neuromolecular parameters such as autophagy intensity and expression of neurotrophic factors in a genetic model of PD (B6.Cg-Tg(Prnp-SNCA^{A53T})23Mkle/J (B6.Cg-Tg) mouse strain).

Methods and Algorithms: To estimate neuroprotective effects of CEF, the animals of experimental groups of B6.Cg-Tg strain and of control wild-type C57Bl/6J strain were injected chronically with the drug (100 mg/kg/day, i. p., 35 days). The behavioral testing included open-field test, Barnes test and T-maze. RT-qPCR-RT was conducted to examine gene expression levels.

Results: CEF administration diminished memory deficits associated with alpha-synuclein overexpression in Barnes test, as evidenced by improved dynamics of the latency to find the target hole, decreased values of weighted mean distance and increased percentage of visits to the target hole. Besides, CEF increased the ratio of correct choices to all choices in T-maze in B6.Cg-Tg mice. Finally, we assessed the impact of CEF on the expression levels of neurotrophic factors genes (BDNF, GDNF, CDNF) and some of the key autophagy-related genes (p62 and Becn1) in the brain.

Conclusion: CEF treatment improved some of impaired cognitive features and exerted positive effects against neurodegeneration-related processes in A53T genetic model of PD. Obtained results provide notable evidence that CEF is a multipotent agent for therapy of various manifestations of PD including dementia.

Acknowledgements: This work was partially supported by grant No. 15-54-52029_HHC-a from the Russian Foundation for Basic Research (RFBR).

TREATMENT FOR PARKINSON'S DISEASE WITH AN OLD MEDICINE: DATA OF ANIMAL AND HUMAN

A.C. Chen¹, C.T. Tai², J.C. Weng³, P.F. Kao⁴, C.Y. Shen⁵, W.H. Wang⁶, C.C. Kuo²,
M.A. Tikhonova⁷, T.G. Amstislavskaya⁷, Y.J. Ho^{8*}

¹ Institute of Neurology, ³ Department of Medical Imaging and Radiological Sciences, ⁴ Department of Nuclear Medicine, ⁵ Department of Medical Imaging, ⁶ Department of Psychology, ⁸ Department of Psychology, Chung Shan Medical University Hospital, Chung Shan Medical University, Taichung; ² Department of Neurology, National Taiwan University Hospital, College of Medicine, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, ROC

⁷ Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine; Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

*e-mail: joshuayjho@gmail.com

Keywords: Parkinson's disease, dementia, glutamate, neurogenesis, ceftriaxone

Motivation and Aim: Hyperglutamatergic activity is involved in pathophysiology of Parkinson's disease (PD). CEF increases expression of glutamate transporter-1 and have neuroprotective effects in neurodegenerative diseases. The present study was aimed at clarifying whether the known CEF-induced neuronal protection was accompanied by neurogenesis and decreased loss of neuronal activity in the MPTP-lesioned PD rat model. **Materials and Methods:** After MPTP lesioning (day 0), the rats were treated with CEF (100 mg/kg/day, i. p.) or saline for 15 days. They were then injected with MnCl₂ (40 mg/kg, i. p.) on day 13 and underwent a brain MRI scan on day 14, then the brain was taken for histological evaluation on day 15.

Results: MPTP lesioning resulted in: (1) deficits of working memory and object recognition, (2) decreased neuronal activity and density in the nigrostriatal dopaminergic (DAergic) system and in the hippocampal CA1, CA3, and dentate gyrus (DG) areas, (3) reduced neurogenesis in the DG and SNc, and (4) hyperactivity in the subthalamic nucleus (STN). These behavioral and neuronal changes were prevented by CEF treatment. Positive correlations between MEMRI R1 values and neuronal density in the hippocampus were evidenced. Neuronal densities in the hippocampus and SNc were positively correlated.

Conclusion: To our knowledge, this is the first study showing that CEF prevents cognitive deficits and loss of neuronal activity and neurogenesis in the brain of PD rats. CEF may therefore have clinical potential in the treatment of PD.

HISTORY-BASED COMPUTERIZED DIAGNOSTIC SYSTEM FOR THE CLINICAL ASSESSMENT OF DEMENTIA

P.Y. Chiu

Department of Neurology, Show Chwan Memorial Hospital, Changhua, Taiwan
e-mail: paivybox@gmail.com

Key words: history-based, dementia, artificial intelligent, Alzheimer's disease

Motivation and Aim: Dementia is among the most frequently studied subjects of neurological disorders. To establish a database of patients with dementia is regarded as the first step for the further dementia researches. The purpose of this study is to design a new diagnostic database system which can provide an artificial intelligent judgment of the diagnosis of subtype of dementia as well as dementia severity of each participant.

Methods and Algorithms: An artificial intelligent diagnostic system is modified and established after a systemic analysis of an old database system. The old database system used Microsoft Access as a tool for the registration of thousands of patients with dementia from several dementia centers in central Taiwan. The new diagnostic system is also used Microsoft Access as a tool and it can auto-judge the disease subtype and severity according to a detailed clinical history derived from the main-caregiver of the participant. The diagnostic accuracy of the computer is the accurate rate of each subtype of dementia divided by the final diagnosis determined by a consensus meeting. The common subtypes of dementia including Alzheimer's disease (AD), vascular dementia (VaD), dementia with Lewy bodies (DLB), Parkinson's disease dementia (PDD), frontotemporal dementia (FTD), and other dementia (OD) were calculated.

Results: From Oct 1 2015 to Sep 21 2016, a total of 1254 patients with memory complaints visited either the dementia clinic of our hospital. Among them, 140 with completed studies including complete neuropsychological tests, blood tests, brain MRI, Dopamine transporter imaging, and ECD SPECT with eZIS analysis were symmetrized and analyzed. The judgement of diagnosis by computer and by consensus meeting was compared. Among most of the common subtype of dementia the accuracy of diagnosis were 88.7 % in AD, 73.3 % in VaD, 90 % in DLB, 88.2 % in PDD, and 80.0 % in FTD.

Conclusion: The total accuracy of the diagnosis judged by the computer system is more than 80 %. Except for other dementia or undetermined dementia, most of the diagnosis made by computer system were compatible with the diagnosis made by our dementia group. Therefore, the history-based diagnosis system might be able to be applied for the screening of severity and subtypes of dementia.

Availability: The diagnostic accuracy and power of the new diagnostic system can be improved by adding the supplementary analysis of brain imagines. Based on the analysis of a big data from a large number of patients with neurodegenerative disorders, we propose that the new system will be able to provide an accurate and convenient way for the clinical registration of patients with dementia.

6-DAY COMBINED PARTIAL WAKE AND LIGHT THERAPY FOR DEPRESSION

K.V. Danilenko*, M.Y. Lebedinskaia, E.V. Gadetskaia, A.A. Beklemisheva, E.D. Nikolenko, L.I. Aftanas

Institute of Physiology and Basic Medicine, Novosibirsk, Russia

**e-mail: kvdani@mail.ru*

Key words: *depression, wake therapy, light therapy*

Motivation and Aim: There are a dozen published studies on triple chronotherapy in depression (sleep deprivation [wake therapy] + light therapy + phase-advanced sleep stabilisation). Whereas its effectiveness has been shown for a total night wake therapy and for bipolar depression, less evidence exists for partial sleep deprivation (more feasible than a full-night awake) and non-bipolar depression. We tested a 6-day treatment protocol of partial sleep deprivation in combination with the most potent (based on the latest knowledge) blue-enhanced bright light (vs. blue-blocked [i. e. orange] light as control) in hospitalised patients with recurrent major depression or dysthymia.

Methods and Algorithms: The study was performed in Novosibirsk (55° N) from October 2016 to April 2017. Inclusion criteria for the patients were: age ≥ 18 yr; major depressive disorder (MDD), recurrent or dysthymia (according to DSM-5 criteria); current depressive episode; good and stable general health; stable dose of antidepressants (if taken) for the last 3 weeks. Exclusion criteria were: bipolar disorder; MDD with seasonal pattern, or with anxious distress, mixed or psychotic features; suicidal ideations. Partial wake therapy (sleep deprivation from 4 to 8 am) was performed in a light therapy room (blue-enhanced light [Philips LEDtube 6500 Kelvin] increased hourly 600→1300→2200→2800 lx) and the light treatment was repeated the next morning at 7–8 am. Time for sleep after the wake therapy night was 2 hours earlier, after the second night, 1 hour earlier. This 2-day cycle was repeated twice (3 cycles in total). Patients were randomised to wear no filtering (clear) or filtering blue light (orange) Chron-optic glasses during the treatments. The depression was scored blind using HDRS-21 (Hamilton Depression Rating Scale) before and after the 6-day treatment, and HDRS-6, Mood scale scores were logged by the patient in a protocol every day. Compliance to the study was controlled by clinic personnel and actimetry.

Results: 22 patients (13 males: 9 females, aged 27–68 y, 15 with MDD recurrent, 7 with dysthymia, 18 antidepressants-free) entered and completed the study. Baseline characteristics of the two study samples (with red and white lights) did not differ significantly. Depression scores significantly decreased following the first night and the entire 6-day treatment, with no difference between white and red lights. The response rate by Mood scale, however, tended to be greater after the 1st night with white light ($p = 0.078$, Chi-squared test). Strikingly, HDRS-6 showed an opposite result. No eye-related adverse events were reported; all patients successfully resisted sleep during daytime; two patients were hyperthymic following the treatment.

Conclusions: Triple chronotherapy with partial wake + light therapy + phase-advanced sleep stabilisation is an effective and feasible-to-use therapy for non-seasonal depression. Light spectrum/intensity during wake therapy is important for the mood improvement.

Acknowledgements: Supported by Presidium of the Russian Academy of Sciences (program IV.12.1, 2015–17).

DETECTING NEURONAL ACTIVITY IN RAT MODEL OF DEMENTIA WITH LEWY BODIES BY USING MEMRI

Y.-J. Ho, M.-S. Lin, J.-C. Weng*

Department of Medical Imaging and Radiological Sciences, Chung Shan Medical University,
Taichung, Taiwan

*e-mail: jcweng@csmu.edu.tw

Key words: dementia with Lewy bodies (DLB), manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI)

Motivation and Aim: Dementia with Lewy bodies (DLB) is thought to be the second commonest cause of neurodegenerative dementia in older people, accounting 15 to 25 % cases at autopsy [1]. However, to date there are no reliable methods of instrumental and laboratory diagnosis of this disease while its treatment is based on reducing the symptoms. The drug X has been shown to have neuroprotective effects in neurodegenerative diseases. Therefore, we aimed to clarify the medicinal effectiveness of drug X through manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI) [2].

Methods and Algorithms: The animals were divided into three groups, 5 sham-operated rats as control group, 5 DLB rats (amyloid- β , A β) and 6 DLB rats were i.p. injected drug X for 14 days. They were then injected with MnCl₂ (40 mg/kg, i.p.) on day 13 and underwent a brain MRI scan on day 14. Scans were performed on a 7-Tesla MRI (Bruker BioSpec, Karlsruhe, Germany). To improve detection sensitivity of Mn²⁺ concentrations, R1 mappings were obtained. We measured R1 value through choosing regions of interest (ROIs) in the coronal images. Then calculate the mean signal intensity for all voxels in the ROIs, average for both hemispheres to compare R1 differences between the groups.

Results: Compares to control group, the rats with DLBs (A β) showed decreased neuronal activities in field CA1 of hippocampus (CA1), dentate gyrus (DG), striatum (caudate, putamen (CPu)) but showed increased activities in subthalamic nucleus (STN). However, only in CA1 and DG have evident decreasing. The statistical significances of CPu and STN were not reached. The treatment group compares with DLBs (A β) group, in CA1 and CPu, the neuronal activities showed the increase, which means the neuronal activities recovered due to injected the drug X. Hence, drug X may have the effectiveness for curing DLB.

Conclusion: Our results showed significantly decreased neuronal activities of DLB rats in CA1 and DG compared to control group, and the neuronal activities recovered due to injected the drug X.

Availability: Our results indicated MEMRI R1 value may serve as a good indicator for DLB severity and the effect of treatment, and drug X may therefore have clinical potential in the treatment of DLB.

References

1. McKeith I. et al. (2004) Dementia with Lewy bodies. *Neurology*. 3:19-28.
2. Massaad C.A., Pautler R.G. (2011) Manganese-enhanced magnetic resonance imaging (MEMRI). *Methods Mol. Biology*. 711:145-174.

THE CLINICAL USE OF ^{99m}Tc -TRODAT-1 IMAGING IN PARKINSON DISEASE: A MOLECULAR IMAGING AGENT DEVELOPMENT EXPERIENCE IN TAIWAN

P.F. Kao^{1*}, J.H. Weng¹, Y.J. Ho²

¹ *Molecular Imaging Laboratory, Department of Nuclear Medicine, Chung Shan Medical University Hospital, Taichung, Taiwan*

² *School of Psychology, Chung Shan Medical University, Taichung, Taiwan*

*e-mail: pfkao@yahoo.com.tw; pfkao@csmu.edu.tw

Key words: *Parkinson disease, ^{99m}Tc -TRODAT-1 imaging, single photon emission computer tomography (SPECT)*

Motivation and Aim: A technetium-99m dopamine transporter (DAT) imaging agent, [^{99m}Tc]TRODAT, was first introduced in Taiwan in 1998. In the past two decades, researchers in Taiwan took advantage of the unique opportunity of being the first group of scientists with a convenient ^{99m}Tc imaging agent for DAT.

Methods and Algorithms: After being approved by the Department of Health in Taiwan in 2005, Taiwan was the first place where [^{99m}Tc]TRODAT was approved for routine clinical use in the diagnosis of Parkinson's disease. This clinical study was approved for National Health Insurance reimbursement in 2011 for 8,750 NTD (about US\$300). It is estimated that there are around 200 [^{99m}Tc]TRODAT scans per month performed in Taiwan.

Results: It is now generally accepted that [^{99m}Tc]TRODAT is useful for (1) differential diagnosis of PD from non-PD, (2) early diagnosis of PD, (3) the reduction of DAT due to other genetic mutations, (4) blocking of DAT due to drugs such as methylphenidate or heavy metal exposure, (5) monitor the progression of PD in the same patient and (6) coupling imaging procedures to patient management. The trials and tribulations of developing [^{99m}Tc]TRODAT for routine clinical use in Taiwan provide an interesting case study in how to develop a molecular imaging agent. With increased SPECT scanner detecting sensitivity and the use of quantification tools, [^{99m}Tc]TRODAT scan can become a routine imaging study readily performed in nuclear medicine clinics. Training course in performing SPECT scan and in reading these scans were both important for promoting this study for clinical use.

Conclusion: Due to its convenience and ease of use, [^{99m}Tc]TRODAT became the agent of choice for differential diagnosis of PD from non-PD and for monitoring the effects of therapy in PD.

DEPRESSION AND RESTING STATE NETWORKS

G.G. Knyazev*, A.N. Savostyanov, A.V. Bocharov

Institute of Physiology and Fundamental Medicine, Novosibirsk, Russia

**e-mail: knyazev@physiol.ru*

Key words: *depression, EEG, fMRI, resting state networks, beamformer, functional connectivity*

Motivation and Aim: Major Depressive Disorder (MDD) has been associated with predominance of the default-mode network (DMN) over the task-positive network (TPN), which is considered a neurobiological base for ruminative responding. It is not known whether this predominance is a signature of the full-blown MDD or it already exists at pre-clinical stages. Besides, all relevant evidence has been obtained using fMRI, which allows for a precise spatial characterization of resting state networks (RSNs), but their neural correlates remain elusive.

Methods and Algorithms: Here, the association between depressive symptoms and RSNs connectivity in resting condition was investigated using seed-based correlation analysis and independent component analysis of fMRI and EEG data.

Results: In a non-clinical sample, depressive symptoms, as measured by the Beck Depression Inventory, were associated with predominance of the DMN over the TPN connectivity in the right insula and the right temporal lobe in the delta frequency band. Similar results were obtained when MDD patients were compared with controls using fMRI data.

Conclusion: These findings imply that in individuals with heightened level of depressive symptoms, emotional circuits are stronger connected with DMN than TPN and should be more easily engaged in self-referential rumination than in responding to environmental challenges. The fact that EEG findings are in agreement with fMRI findings confirms the neural base of the observed in fMRI research effects and shows that implicated in depression neural mechanism may already be in action even at preclinical stages.

Acknowledgements: The study was supported by the Russian Science Foundation (RSF) under Grant No. 14-15-00202.

POSSIBILITIES AND LIMITATIONS OF AUTOPHAGY MODULATION IN CORRECTION OF NEURODEGENERATION

T.A. Korolenko^{1*}, A.B. Pupyshev^{1,2}, A.A. Akopyan¹, M.A. Tikhonova^{1,3}

¹Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine, Novosibirsk, Russia

²Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia

³Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

*e-mail: apupyshev@mail.ru

Key words: autophagy, lysosomes, neurodegeneration, neuroprotection

Motivation and Aim: A common feature of neurodegenerative diseases is the accumulation of proteins prone to aggregation and protein inclusions. The cellular tool for their elimination is autophagy that consists of the segregation of own cytoplasmic material into autophagosomes followed by fusion with lysosomes. Autophagy is disturbed in various ways in these diseases and decreases with ageing. The aim of the study was to show some perspectives of autophagy stimulation for neuroprotection.

Methods and Algorithms: Animal models of neurodegeneration, modulation of autophagy, immunohistochemistry (IHC) of LC3-II marker, electron transmission microscopy, and osmotic test for autophagy were applied.

Results: Rats of OXYS strain, a model of accelerated senescence and Alzheimer's disease-like features, did not differ from Wistar rats in osmotic susceptibility of brain lysosomes indicating the autophagy activity by the ratio between heterolysosomes (here, autophagolysosomes) and primary lysosomes. However, the treatment of OXYS rats with neuroprotector ceftriaxone enhanced osmotic susceptibility of lysosomes that reflects some activation of autophagy in the frontal brain cortex. The result requires further study since this effect of ceftriaxone might be regarded as an important part of its neuroprotective properties. The osmotic test was also useful in detection of autophagy stimulation induced by starvation. On the contrary, in a mouse genetic model of Parkinson's disease (PD), osmotic test did not reveal significant differences between mutant and wild-type mice in autophagy levels in brain structures while IHC of autophagy marker LC3-II occurred to be more sensitive and demonstrated a marked suppression of autophagy in the striatum and a less prominent decrease in s.nigra, the dopaminergic brain structures that are responsible for motor deficits in PD. The effects of autophagy stimulation by rapamycin targeting mTOR and disaccharide trehalose were also studied.

Conclusion: The data obtained on suppressed autophagy in the dopaminergic brain regions in the murine genetic PD model are a good basis for revealing therapeutic properties of autophagy stimulation. It is important to prevent crossing the border between reparative autophagy and autophagy-induced cell death.

Acknowledgements: This work was partially supported by grant No. 16-04-01423 from the RFBR and helped by the unique scientific resource "Biological collection – Genetic biomodels of neuropsychiatric disorders" (Project No. 493387) at the Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine.

DYSREGULATION OF INSULIN SIGNALING PLAYS AN IMPORTANT ROLE IN DEMENTIA WITH LEWY BODIES (DLB)

T.-J. Lai^{1, 2*}, C.-L. Lin¹, H.-H. Li¹, P.-Y. Chiu³, Y.-J. Ho⁴

¹ *Institute of Medicine, Chung Shan Medical University, Taichung, Taiwan*

² *Department of Psychiatry, Chung Shan Medical University Hospital, Taichung, Taiwan*

³ *Department of Neurology, Show Chwan Memorial Hospital, Changhua, Taiwan*

⁴ *School of Psychology, Chung Shan Medical University, Taichung, Taiwan*

*e-mail: tejenlai@hotmail.com

Dementia with Lewy bodies (DLB) is a common cause of geriatric cognitive impairments. The underlying biology of DLB is complex, but the presence of α -synuclein aggregation containing Lewy body is most essential pathological feature. It is interesting many DLB cases are often displayed amyloid β ($A\beta$) depositions, that are crucially involved in Alzheimer's disease (AD). In fact, both α -synuclein and $A\beta$ are frequently co-localized in Lewy body. In addition, the greater the AD pathology in DLB patients, the more severe with disease progression in DLB. However, the reason for this overlap is unknown. As $A\beta$ appears to play a key role in the pathogenesis of DLB, we postulate it might further deepen the progress of α -synuclein-induced neurotoxicity. In the present study, our results demonstrated that $A\beta$ promotes α -synuclein aggregation, and enhances neurotoxicity in a synergistic effect. Moreover, $A\beta$ also decreased the degradation of aggregated α -synuclein by interfering autophagy process, and induced neuronal cell senescence by downregulating of AMP-activated protein kinase (AMPK) and Sirt1 signaling. Interestingly, our data also showed $A\beta$ and α -synuclein-mediated toxic effects are associated with impaired insulin signaling transduction in neuronal cells. Accordingly, restoration of insulin sensitivity by glucagon-like peptide-1 (GLP-1) effectively attenuated $A\beta$ -induced α -synuclein neurotoxicity. In conclusion, our results firstly provided the basis for molecular mechanisms involved in the pathogenesis of DLB and brain insulin resistance. Moreover, the therapeutic potentials of GLP-1 may provide novel treatment strategies for DLB in future.

OVEREXPRESSION OF NANOG ATTENUATES A β -INDUCED NEUROTOXICITY THROUGH INSULIN SIGNALING

H.-H. Li^{1*}, F.-J. Lu¹, P.-Y. Chiu², Y.-J. Ho³, T.-J. Lai^{1,4}, C.-L. Lin¹

¹ Institute of Medicine, Chung Shan Medical University, Taichung, Taiwan

² Department of Neurology, Show Chwan Memorial Hospital, Changhua, Taiwan

³ School of Psychology, Chung Shan Medical University, Taichung, Taiwan

⁴ Department of Psychiatry, Chung Shan Medical University Hospital, Taichung, Taiwan

*e-mail: vivid529@hotmail.com

Key words: *Alzheimer disease (AD), amyloid β (A β), Nanog, insulin signaling, oxidative stress*

Alzheimer's disease (AD) is the most common neurodegenerative disease in the elderly, therefore, aging is the most important risk factor in the AD. The pathological hallmark of AD is accumulation of misfolded amyloid- β (A β) peptides and hyperphosphorylated tau protein in the brain. Increasing evidence has shown that A β peptides production is the key pathological cause of AD. Our previously studies indicated that A β increased intracellular reactive oxygen species (ROS) which caused mitochondria dysfunction, cell death and aging. Researches identifies that critical aging pathologies include AD was associated with ROS responses and insulin signaling cascade. In fact, insulin receptors are abundantly distributed in neuron synaptic membranes in the brain. Researches evidence shows that insulin signaling cascade played an important for neuron cell survival. However, the molecular mechanisms of aging are not completely clear. Recently researches indicated that embryonic gene Nanog reverses aging in adult stem cell. To this, previous studies have identified that microRNA miR-302s is predominantly expressed in human embryonic stem cells (ESC) and regulates several key ESC-specific markers, including Nanog which is essential for guiding ESC differentiation into neural cells. As a result, Nanog may provide insights into a crucial link between insulin signaling and neural development, rendering Nanog as a potential protective agent against A β -induced neurotoxicity. In the present study, we found that elevated expression of Nanog prevents A β -induced oxidative stress and neuronal death. In neuroblastoma SK-N-MC cells, the overexpression of Nanog inhibit A β -blocked insulin signaling pathway. In conclusion, we herein present the first evidence to demonstrate that Nanog overexpression inhibits A β -induced neurotoxicity via insulin signaling in neuronal cells.

CO-EXPRESSION OF OCT4, SOX2, KLF4 AND NANOG (KOSN) TRANSCRIPTION FACTORS PROTECTS AGAINST AMYLOID β -INDUCED NEUROTOXICITY BY IMPROVING INSULIN SIGNALING SENSITIVITY

C.-L. Lin^{1*}, H.-H. Li¹, H.G. Kim¹, C.-C. Chang^{1,2}, P.-Y. Chiu³, Y.-J. Ho⁴, T.-J. Lai^{1,2}

¹ Institute of Medicine, Chung Shan Medical University, Taichung, Taiwan

² Department of Psychiatry, Chung Shan Medical University Hospital, Taichung, Taiwan

³ Department of Neurology, Show Chwan Memorial Hospital, Changhua, Taiwan

⁴ School of Psychology, Chung Shan Medical University, Taichung, Taiwan

*e-mail: dll@csmu.edu.tw

Key words: Alzheimer's disease, amyloid β , insulin signaling, *Klf4-Oct4-Sox2-Nanog*, neuroprotection

Alzheimer's disease (AD) is the most common cause of neurodegenerative disease characterized by the abnormal accumulation of amyloid β peptides (A β). Although some medicines can treat memory loss and other symptoms of AD, there is no cure for this devastating disease clinically. Recently, stem cell technologies have become an increasingly attractive option to investigate and treat neurodegenerative diseases. Particularly, induced pluripotent stem cells (iPS)-based therapies are developed and exhibit great potential for the treatment of AD because they can significantly rescue A β -induced neurotoxicity. In this regard, we postulated that the application of iPS cells in against A β -induced neurotoxicity maybe a useful strategy to alleviate neuronal damage during AD pathogenesis. However, details of transplanted cells themselves release protective neurotropic factors *in vivo* remains elusive. In the present study, we transfected with a combination of four transcription factors – Oct4, Sox2, Klf4 and Nanog (KOSN) to somatic neuroblastoma cells. Our data demonstrated that KOSN transfection displays neuroprotective roles in against A β -induced neurotoxicity. In addition, KOSN transfection upregulates neuronal survival signaling by modulating microenvironments. We expect the iPS transplantation methods may lead to a novel therapeutic strategy, which would slow or halt the disease progression of AD in future.

AGE-DEPENDENT EFFECTS OF LIPOCALIN-2 (LCN2) ON COGNITIVE PERFORMANCE IN MICE

T.V. Lipina^{1, 2, 3*}, T. Berger⁴, T.W. Mak⁴, J.C. Roder^{1, 5}, L.I. Aftanas^{2, 3}

¹Samuel Lunenfeld Research Institute at Mount Sinai Hospital, Toronto, Ontario, Canada

²Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine, Novosibirsk, Russia

³Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

⁴Campbell Family Institute for Breast Cancer Research, Ontario Cancer Institute, University Health Network (UHN), Toronto, Ontario, Canada

⁵Departments of Medical Biophysics and Molecular and Medical Genetics, University of Toronto, Toronto, Ontario, Canada

*e-mail: lipina@physiol.ru

Key words: spatial learning & memory, fear memory, gliatransmitter lipocalin-2 (LCN2), LCN2 knockout mice, aging

Motivation and Aim: Accumulating evidences suggest the important role of iron in the regulation of synaptic plasticity in the brain and hence, cognitive functions. Recently, we identified lipocalin 2 (LCN2) as a new glia-transmitter, which regulates iron' level in the cell, and showed the co-expression of LCN2 with glial fibrillary acidic protein (GFAP), the marker of astrocytes in the mammalian brain [1]. The exact role of LCN2 in cognitive functions remains to be unknown, although correlation between LCN2 expression and index of cognition in human was shown [2].

Methods and Algorithms: Hence, we aimed to probe cognitive performance of adult (3 months old) and aged (8 months old) LCN2 knockout mice (LCN2-KO), assessed in the Morris' water-maze and fear conditioning tests.

Results: Adult LCN2-KO mice demonstrated the facilitated contextual and cued fear conditioning in comparison with their wild-type (WT) littermates. Moreover, adult LCN2-KO animals learnt faster the position of the escape platform in the water-maze test and showed more robust spatial memory than WT mice. In opposite, aged LCN2-KO mice showed poor cognitive performance than aged WT control animals. They demonstrated the reduced freezing in both contextual and cued fear conditioning and deficient spatial learning & memory in comparison with aged control mice.

Conclusions: Our data suggest that LCN2 elicits its effects on cognition in age-dependent manner and astrocyte-dependent mechanisms of enhanced and declined cognitive performance are need to be studied.

Acknowledgements: This study was partially supported by CAE "Neuroscience in translational medicine".

References

1. Lipina T.V., Haque F.N., McGirr A., Boutros P.C., Berger T., Mak T.W., Roder J.C., Wong A.H.C. (2012) Prophylactic valproic acid treatment prevents schizophrenia-related behaviour in *Disc1*-L100P mutant mice. *PLoS ONE*. 7(12):e51562.
2. Choi J., Lee H.W., Suk K. (2011) Increased plasma levels of lipocalin2 in mild cognitive impairment. *J. Neurol. Science*. 305(1-2):28-33.

HESPERIDIN PROTECTS RATS FROM A β -INDUCED NEUROTOXICITY BY THE REDUCTION OF LIPID PEROXIDATION, AND EXPRESSION OF HEME OXYGENASE AND iNOS

K.T. Lu¹, P.Y.Y. Wo², H.Y. Liu², Y.L. Yang^{2*}

¹ Department of Life Science, National Taiwan Normal University, Taipei, Taiwan

² Department of Biochemical Science and Biotechnology, National Chia-Yi University, Chia-Yi, Taiwan

*e-mail: ylyang@mail.ncyu.edu.tw

Key words: Hesperidin, Alzheimer's disease, Ab, lipid peroxidation, iNOS

Motivation and Aim: Alzheimer's disease (AD) is a neurodegenerative disorder, which could lead to a severe dementia and affect multiple cognitive and behavioral functions. Amyloid β protein (A β), a 39- to 43-amino acid peptide fragment derived from an amyloid precursor protein is currently believed to be tightly related to the pathogenesis of AD. Hesperidin, one of the widely distributed and easily available flavonoid found abundantly in citrus fruits. Like other flavonoid, hesperidin could cross the BBB and elicited various effects on memory, cognition and neurodegeneration. This study wants to evaluate the protective effects of hesperidin on A β -induced neurotoxicity.

Methods and Algorithms: A β was stereotactically injected into the lateral ventricle of adult male Sprague-Dawley (SD) rats weighing 500–550 g. Morris water maze and rotarod were used to evaluate the memory impairment and motor function. Western blot was used to detect the level of iNOS and HO-1. Lipid peroxidation was measured by MDA assay and neuronal damage was evaluated by H&E staining.

Results: We found the injection of A β could result in a significant impairment in spatial memory, a marked increase in the cellular level of iNOS and lipid peroxidation, and an apparent decrease in the expression of heme oxygenase-1 (HO-1). By combining the treatment with A β , hesperidin was able to confer a significant improvement in spatial memory, and protect animals from A β -induced neurotoxicity. These neurological protection effects of hesperidin were associated with a reduction in iNOS and lipid peroxidation and an increase in the production of HO-1.

Conclusion: These findings strongly implicate that iNOS is involved in the A β -induced lipid peroxidation and HO-1 downregulation, and hesperidin protects animals from A β -induced neurotoxicity by suppressing iNOS production.

Availability: This study suggests the therapeutic effects of hesperidin on AD treatment.

Acknowledgements: The study was supported by Ministry of Science and Technology (MOST), Taiwan.

AN INNOVATIVE STRATEGY TO RESCUE THE HIPPOCAMPAL BIOENERGETICS IN A RAT MODEL OF PARKINSON'S DISEASE: UTILIZING PLASMON-ACTIVATED WATER AS A NATURAL APPROACH

T.-Y. Renn¹, L.-Y. Chen², Y.-C. Liu³, F.-D. Mai³, Y.-J. Ho⁴, H.-M. Chang^{5*}

¹ Graduate Institute of Medical Sciences, College of Medicine, Taipei Medical University, Taipei, Taiwan

² Department of Anatomy, School of Medicine, College of Medicine, Chung Shan Medical University, Taichung, Taiwan

³ Department of Biochemistry and Molecular Cell Biology, School of Medicine, College of Medicine, Taipei Medical University, Taipei, Taiwan

⁴ School of Psychology, College of Medical Science and Technology, Chung Shan Medical University, Taichung, Taiwan

⁵ Department of Anatomy and Cell Biology, School of Medicine, College of Medicine, Taipei Medical University, Taipei, Taiwan

e-mail: taiwanzoo@gmail.com

Key words: neurodegenerative disease, oxidative stress, cognitive dysfunction, hippocampal bioenergetics

Parkinson's disease (PD) is a progressive neurodegenerative disease with cognitive dysfunction wherein impaired hippocampal bioenergetics due to enhanced oxidative stress underlies the molecular mechanism of this deficiency. Considering plasmon-activated water (PAW) possesses significant anti-oxidative effects, present study aims to determine whether PAW would successfully depress the oxidative stress, and thereby, rescue the hippocampal bioenergetics following PD. Adult rats subjected to intranigral 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) injection were daily drank of deionized water or PAW for 2 weeks. The malondialdehyde level, time-of-flight secondary ion mass spectrometry, quantitative immunohistochemistry, [¹⁴C]-2-deoxyglucose (2-DG) assay, and novel object recognition test were used to detect the oxidative stress, ionic/neurochemical expression of molecular machineries involved in long-term potentiation, the hippocampal bioenergetics, as well as the cognitive function, respectively. Results indicated that in MPTP-injected rats, enhanced oxidative stress, diminished Ca²⁺ intensity, decreased *N*-methyl-D-aspartate receptor and phosphorylated *cAMP response element-binding* protein expression, reduced nitric oxide level, and increased α -synuclein with low 2-DG activity were detected in hippocampal regions. Impairment of the hippocampal bioenergetics corresponded well with poor performances in cognitive test. However, in rats daily drank of PAW during the post-MPTP period, all above parameters were greatly returned to nearly normal levels. No noticeable loss of tyrosine hydroxylase activity was detected in substantia nigra. Behavioral test also showed a significant improvement in cognitive activity following PAW. As PAW successfully rescue the hippocampal bioenergetics through preserving the ionic/molecular machineries involving in neuro-plastic regulation, daily drinking of PAW may be worthy of trial for clinical use as a novel strategy to counteract the PD-induced cognitive dysfunction with a healthier, more natural, and more convenient way.

MODULATION OF THE GENE EXPRESSION LEVELS OF PROTEINS INVOLVED INTO THE METABOLISM OF AMYLOID-BETA IN THE BRAIN FOR NEUROPROTECTION

M.A. Tikhonova^{1,3*}, V.M. Belichenko¹, L.A. Fedoseeva^{1,2}, N.D. Belyaev⁴, T.G. Amstislavskaya^{1,3}

¹ Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine, Novosibirsk, Russia

² Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

³ Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

⁴ University of Leeds, Leeds, UK

*e-mail: tikhonovama@physiol.ru

Key words: amyloid-degrading enzymes, gene expression, Alzheimer's disease, rats

Motivation and Aim: The dominant hypothesis about the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD) is the "amyloid cascade" concept. The accumulation of amyloid-beta (A β) is assigned a key role in triggering the chain of pathological neurodegenerative processes. It is believed that modulating the expression of proteins involved in the metabolism of A β can be an effective strategy for the prevention and therapy of AD [Nalivaeva et al., *Neurochem. Res.*, 2016]. Recently, we found that an antibiotic ceftriaxone (CEF), which possesses neuroprotective activity, reduced cognitive deficits and neurodegenerative changes in OXYS rats, a model of sporadic AD [Tikhonova et al., *Behav. Brain Res.*, 2017]. The molecular mechanisms of this effect are not completely clear, we suggested that the drug might act via a change in the expression of genes involved in the metabolism of A β and the pathogenesis of AD. The study was aimed to determine the effects of CEF on *Ace*, *Bace*, *Bdnf*, *Epo*, *Ece*, *Ide* and *Mme* expression levels in the frontal cortex, hippocampus, striatum, hypothalamus, and amygdala of Wistar and OXYS rats.

Methods and Algorithms: Starting from the age of 14 weeks, male Wistar and OXYS rats received ceftriaxone (100 mg/kg/day, i. p., 36 days) or saline. Gene expression levels were evaluated with RT-qPCR-RT method.

Results: Interstrain differences were revealed in the expression of *Bdnf*, *Ide*, and *Mme* in the amygdala, *Ece* in the hippocampus and striatum, *Ace* in the frontal cortex, hypothalamus and striatum. A significant effect of CEF was found on the levels of *Bdnf* expression in the hippocampus, *Ace* and *Bace* expression in the hypothalamus, *Ace* and *Ece* expression in the striatum. In the "OXYS + ceftriaxone" group, the levels of *Bdnf*, *Epo*, *Ide* and *Mme* expression were augmented in the amygdala as well as the levels of *Ace* and *Ece* expression in the striatum while the levels of *Ece* and *Mme* in the hippocampus, *Mme* in the frontal cortex, *Ace* and *Bace* expression in the hypothalamus were down-regulated.

Conclusion: The modulating effect of CEF on the gene expression levels of the proteins involved into the metabolism of A β has been demonstrated that may play an important role in neuroprotection at AD-like disorders.

Acknowledgements: This work was partially supported by grant No. 15-04-05593-a from the Russian Foundation for Basic Research (RFBR).

SOCIAL FUNCTIONING IN PATIENTS WITH TEMPORAL LOBE EPILEPSY

W.-H. Wang^{1, 2*}, M.-S. Hua³

¹ Department of Psychology, Chung Shan Medical University, Taichung, Taiwan

² Clinical Psychology Room, Chung Shan Medical University Hospital, Taichung, Taiwan

³ Department of Psychology, College of Science, National Taiwan University, Taipei, Taiwan

*e-mail: whwang@csmu.edu.tw

Key words: *temporal lobe epilepsy, cognitive functions, psychiatric status, social functioning*

Maintaining or improving social functioning has been a long-standing goal for patients with epilepsy, their families, and clinicians. However, it is still unclear to what extent cognitive impairment or other relevant factors can have a direct influence on social functioning, because of a lack of functional-based social functioning scale for epilepsy. In response to this issue, the following serial studies were conducted.

The first study was conducted to develop and validate a functional-based social functioning scale for epilepsy. The second study was conducted to explore the effects of theory of mind (ToM) and related potential risk factors, including cognitive functions, psychiatric status, and seizure-related clinical variables, on social functioning in patients with temporal lobe epilepsy (TLE).

A new epilepsy-specific social functioning scale, namely, the “Social and Occupational Functioning Scale for Epilepsy (SOFSE),” was developed. It is a brief, psychometrically sound, and easy-to-administer measure of social functioning for use in busy clinical settings. By using the SOFSE, the study 2 found that advanced ToM deficits, psychiatric disturbances, and impaired intellectual function are all relevant factors in predicting general social functioning of TLE patients.

EFFECTS OF GLYCINE AND D-CYCLOSERINE ON *IN VIVO* NEURONAL ACTIVITY IN NORMAL AND SCHIZOPHRENIA MODEL MICE

L. Yao, J. Ju, Q. Zhou*

School of Chemical Biology and Biotechnology

Peking University Shenzhen Graduate School, Shenzhen, China

**e-mail: zhouqiang@pkusz.edu.cn*

Key words: *NMDAR, D-cycloserine, glycine, Ca²⁺ imaging in vivo, prefrontal cortex, mouse model of schizophrenia, neuregulin 1*

In addition to their well-known critical contribution to the induction of synaptic plasticity, NMDA receptors (NMDARs, a subtype of glutamate receptors) play a critical role in the minute by minute signal transmission in the brain, especially in the function of GABAergic inhibitory neurons. Altered NMDAR function leads to altered balance between excitation and inhibition in the neural network and can affect a large range of brain functions, including working memory. Hypofunction of NMDARs has been postulated to underlie the pathogenesis of certain psychiatric disorders, such as schizophrenia. Opening of NMDARs requires the presence of the agonist glutamate and the co-agonists glycine or D-serine. The concentration/availability of these co-agonists in the brain affects the activity and function of NMDARs. Due to the fact that glutamatergic function is reduced in the psychiatric disorders (such as schizophrenia), manipulating glycine or D-serine level (such as increasing their levels) is considered as a treatment option for psychiatric disorders. The clinical efficacy of such treatment is still in debate and clinical testing of modulators altering glycine or D-serine level has not met with success. In the literature, most of the studies have shown enhancement of NMDAR functions by elevating the level of these co-agonists, but it has not been examined as whether this enhancement can lead to enhanced neural activity which is ultimately the goal. Meanwhile, since NMDAR hypofunction is more likely to be mediated by reduced function on the inhibitory neurons, it remains to be demonstrated clearly that the activity of inhibitory neurons can be selectively modulated by glycine or D-serine. To address the above questions, we used *in vivo* two photon time-lapse Ca²⁺ imaging to examine the effects of glycine or D-cycloserine on the spiking activity in the mouse prefrontal cortex, together with *in vivo* single unit recording. *In vivo* Ca²⁺ signals were sensitive to NMDAR activation, as they were reduced by selective NMDAR antagonist MK-801. This reduction is associated with reduced neural spiking in the inhibitory neurons and enhanced firing (especially spontaneous spiking) in the excitatory neurons. In wt type, systemic injection of either glycine or D-cycloserine does not alter Ca²⁺ signals (frequency, amplitude or area), suggesting minimal effects on neuronal activity on either excitatory or inhibitory neurons. However, in schizophrenia model mice with enhanced neuregulin 1 signaling, glycine but not D-cycloserine significantly enhanced activity in a subpopulation of neurons *in vivo*, putatively inhibitory neurons. In addition, we have observed elevated activity in the neural network in the prefrontal cortical regions of schizophrenia model mice, consistent with the notion that inhibitory function is reduced in these mice. The above results indicate a state-dependent contribution of glycine to neuronal spiking *in vivo*, and implicate therapeutic potential of NMDAR co-agonists in treating certain psychiatric disorders (such as schizophrenia).

Абрамова Т.О. 57
Адоньева Н.В. 54
Айтназаров Р.Б. 40
Акулов А.Е. 61
Алексеев А.А. 55
Алексеева А.Л. 96
Алемасов Н.А. 226
Алехина Т.А. 56, 68, 84
Амстиславская Т.Г. 81
Амстиславский С.Я. 57, 64, 81
Андреева Е.Н. 96
Антонов Е.В. 82
Асанов М.А. 130
Афонников Д.А. 25, 169, 174, 177, 181
Ахмадишина Л.З. 22
Ахметкиреева Т.Т. 76

Багинская Н.В. 129
Бады-Хоо М.С. 137
Бажан Н.М. 58, 79
Базовкина Д.В. 155
Баишникова И.В. 65
Баканова М.Л. 130
Бакланов А.В. 58, 79
Баранов К.О. 27, 131, 157
Барашков Н.А. 137
Баричева Э.М. 110
Бархаш А.В. 145
Баттулин Н.Р. 104
Батурина Г.С. 73
Белан И.А. 207
Белова К.А. 111
Белова Л.И. 207
Белоногова Н.М. 33
Бельков В.И. 205
Беляев Н.Д. 132
Беньковская Г.В. 22, 76, 210
Бёрнер А. 169
Берсимбаев Р.И. 133, 134
Благова Д.К. 210
Болотова Т.А. 205
Бондарь А.А. 137
Бондарь Н.П. 83
Борищук И.А. 145
Брошков А.Д. 97
Брусенцев Е.Ю. 57, 81
Булгакова О.В. 133, 134
Булыгина В.В. 67
Бурдина Е.В. 54

Быков Р.А. 23
Бычков И.Ю. 227

Вавилова В.Ю. 37
Вайдо А.И. 87
Васильев Г.В. 25
Васильева И.М. 159
Ваулин О.В. 24, 29
Вафин И.А. 130
Вебер-Лотфи Ф. 205
Виноходов Д.О. 36
Воевода М.И. 138, 139, 145, 158, 227
Волкова О.Ю. 131, 157
Володин И.А. 59
Володина Е.В. 59
Воронина Е.Н. 152, 153, 155

Галимова Ю.А. 98
Галицын Г.Ю. 208
Гатти М. 107
Генаев М.А. 25, 169
Герасимова С.В. 201, 202
Гербек Ю.Э. 25, 64
Герлинская Л.А. 146
Гилинский М.А. 82
Гилязова И.Р. 140
Гималова Г.Ф. 135
Гоголева С.С. 59
Голибродо В.А. 78
Головина Т.А. 130
Голубица А.Н. 104
Гончар А.Д. 74
Гончаров Н.П. 204
Горелова В.В. 202
Горчаков А.А. 131
Графодатский А.С. 26
Григорьева Е.В. 99
Грищенко С.Ю. 109
Груntenко Н.Е. 54, 55, 60
Гулевич Р.Г. 25, 61, 71, 88
Гуменная Э.Р. 135
Гунбин К.В. 139, 177, 181
Гундерина Л.И. 97
Гусельников С.В. 27, 131, 157

Данилов Ю.Н. 111
Данилова М.А. 97
Данильченко В.Ю. 137
Датских Е.О. 227

Девяткин В.А. 136
Дейнеко Е.В. 206
Дитриш А. 205
Добровольская О.Б. 169
Донских В.А. 170
Дорогова Н.В. 98, 110
Доронин Б.М. 141
Дорошков А.В. 169
Драчкова И.А. 178
Дубатолов В.В. 37
Дубинина А.Д. 62
Дыгало Н.Н. 67

Егорова А.А. 202
Елисафенко Е.А. 108
Ермолаев В.И. 28, 32, 35
Ершов Н.И. 82
Ефимов В.М. 85

Жданова Н.С. 105
Железова А.И. 104
Живень М.К. 108

Завьялов Е.Л. 160
Загидуллин Ш.З. 135
Загорская А.А. 206
Задесенец К.С. 100
Закиян С.М. 99, 106, 108
Запара Т.А. 148
Запорожец В.И. 28, 32
Засухина Г.Д. 159
Захаров И.К. 24, 29
Захарова И.С. 108
Землянская Е.В. 171
Зотова А.А. 63
Зыцарь М.В. 137

Ибрагимова С.М. 203
Иванисенко В.А. 226, 228
Иванова А.А. 138
Иванова Л.Н. 62
Иваношук Д.Е. 158, 227
Игонина Т.Н. 64, 81
Игошин А.В. 139
Илинский Ю.Ю. 23, 97, 101, 111
Ильина Т.Н. 65
Ильницкая С.И. 129
Ильчибаева Т.В. 66, 86
Илюха В.А. 65

Казанцев Ф.В. 172
Казанцева А.Ю. 58, 79
Калинина Т.С. 67

Карпова Е.В. 204
Карпова Е.К. 55
Карунас А.С. 135
Каткова Л.Е. 73
Кашина Е.В. 129, 178
Кизилова Е.А. 57, 104
Киселева Е.В. 102, 106
Клещев М.А. 68
Клименко А.И. 173, 176
Клименко Е.С. 205
Клименок И.И. 69
Климентова Е.А. 140
Климов Л.О. 70
Клочков Д.В. 56
Князев С.П. 28, 32
Ковалева Е.В. 141
Когай В.В. 180
Кожевникова В.В. 57
Кожемякина Р.В. 61, 66, 71, 88
Козлов В.Е. 208
Козлова Д.И. 142
Козлова И.В. 145
Козырева Т.В. 143
Колосова И.В. 160
Колосова Н.Г. 136, 149
Колчанов Н.А. 176
Кондратенко Е.Я. 204
Коновалов А.А. 204
Коновалова Н.А. 227
Коновалова О.С. 227
Коношенко М.Ю. 88
Константинов Ю.М. 205
Коромыслов Ю.А. 29
Короткова А.М. 201
Костерин О.Э. 37
Костюнин А.Е. 111
Кочетов А.В. 179, 203
Кравцова Л.А. 207
Кузнецова А.Е. 204
Кулемзин С.В. 27
Кулешова А.Е. 72
Кулинченко М.В. 205
Кусаинова А.А. 133, 134

Ланкин В.С. 30
Ланшаков Д.А. 67
Лапштаева А.В. 144
Ларкин Д.М. 33, 40
Лашин С.А. 173, 174, 176, 177
Лебедев М.О. 103
Левицкий В.Г. 171, 175
Лихенко И.Е. 208

Лихошвай В.А. 180
Логвиненко Н.С. 73

Мажукин Д.Г. 109
Мазунин И.О. 23
Макарова Е.Н. 72, 74
Максимов В.Н. 138
Максимов И.В. 210
Макунин А.И. 27
Маланханова Т.Б. 99, 106
Малахова А.А. 106
Малофеев В.Л. 69
Малютина С.К. 138
Маркель А.Л. 62, 70, 82, 85
Маркина Н.В. 78
Маркова С.Г. 141
Матвеева Н.М. 104
Матушкин Ю.Г. 173, 174, 176, 177
Мензоров А.Г. 104
Меркулова Т.И. 83
Мечетина Л.В. 131, 157
Минина В.И. 130
Минина Ю.М. 105
Миронова В.В. 172
Михайлов В.Ф. 159
Михайлова С.В. 145, 227
Мокроусова В.И. 57
Мордвинов В.А. 129
Морозов В.В. 141, 150
Морозов И.В. 137
Морозова К.Н. 106
Мошкин М.П. 146
Мошкин Ю.М. 146, 175
Муралёва Н.А. 136, 154
Мурсалимов С.Р. 206
Мустафин З.С. 174, 177
Мухамедшина И.А. 31

Найденко С.В. 57
Науменко В.С. 66, 75, 86, 155
Наякшин А.М. 131, 157
Невзорова Т.А. 107
Немченко В.В. 207
Никитин С.В. 28, 30, 32
Никоноров Ю.М. 22, 76
Новоселов В.П. 138

Огиенко А.А. 96
Окотруб К.А. 57
Орищенко К.Е. 104
Орлова Е.А. 63
Осадчая Т.С. 207
Осадчук А.В. 147, 178

Осадчук Л.В. 68, 77, 178
Осипова Л.П. 152, 153, 155
Осипова С.В. 169
Ощепков Д.Ю. 171

Павлов В.Н. 140
Павлова Г.А. 107
Павлова М.Б. 87
Павлова С.В. 99
Перепелкина О.В. 78
Першина Л.А. 207
Петрова О.М. 64, 81
Пиндюрин А.В. 96, 103, 107
Пискунова Ю.В. 58, 79
Плюснина А.В. 33, 40
Плюснина И.Ф. 61
Полетаева И.И. 78
Полонская Я.В. 158
Пономаренко М.П. 178
Пономаренко П.М. 178
Попов А.В. 36, 142
Попова Н.К. 80
Попова Ю.В. 107
Посух О.Л. 137
Потапова Т.А. 139
Прокудина О.И. 56, 84
Проскура А.Л. 148
Пшеничникова Т.А. 169

Рагаева Д.С. 64, 81
Рагино Ю.И. 158
Размахнин Е.П. 208, 209
Размахнина Т.М. 208, 209
Разуваева А.В. 107
Разумов И.А. 160
Рассказов Д.А. 178
Ратушняк А.С. 148
Раушенбах И.Ю. 54, 60
Редина О.Е. 70, 82, 85
Решетников В.В. 83
Рихтер В.А. 55
Рожкова И.Н. 57, 64, 81
Романова И.В. 55
Ромашенко А.В. 160
Ромашенко А.Г. 139, 227
Россеева Л.П. 207
Рубцов Н.Б. 100, 104
Рувинский А.О. 34
Рудницкая Е.А. 149
Рыжкова А.В. 130
Рябушкина Ю.А. 83
Рязанова М.А. 84

Савина М.А. 28, 32, 35
Савинкова Л.К. 178
Савченко С.В. 138
Савченко Я.А. 130
Сазанов А.А. 36
Сайк О.В. 228
Салеева Д.В. 159
Самсонов В.А. 109
Серов О.Л. 104
Серяпина Ю.В. 141, 150
Сидорчук Ю.В. 206
Симонов А.В. 169
Смирнова А.М. 108
Смирнова О.Г. 179
Смоленская С.Э. 82
Соленов Е.И. 73
Соловьев В.И. 37
Сорокань А.В. 210
Стегний В.Н. 38
Степочкина Н.И. 208
Стефанова Н.А. 149, 154
Столбов Н.С. 170
Стрыгина К.В. 211
Студеникина А.А. 83
Сулимова Л.А. 63
Султанов И.М. 140
Султанова Р.И. 151
Сульдина Л.А. 99, 106
Сурумбаева А. 99
Суслов В.В. 181
Сухарева Е.В. 67
Сычев И.В. 144

Табиханова Л.Э. 152
Таранин А.В. 27, 131, 157
Тарасенко В.И. 205
Тарасова А.Ю. 78
Тен Ю.А. 109
Тийс Е.С. 228
Тийс Р.П. 153
Тимофеев А.В. 36
Тимофеева А.А. 130
Титов В.А. 130
Титов И.И. 170
Титов Р.А. 130
Тихонова М.А. 64, 81
Трапезов О.В. 30, 35, 39
Трапезова Л.И. 39
Трифонов В.А. 27
Трифорова Е.А. 180, 203
Трубачеева Н.В. 207
Трут Л.Н. 25, 31, 59, 77
Туманян С.Р. 204

Турнаев И.И. 181
Тюменцев М.А. 154

Фёдорова С.А. 98, 109
Федосеева Л.А. 85
Феофанова Н.А. 146
Филимонова Е.А. 86
Филипенко Е.А. 203
Филипенко М.Л. 152, 153, 155
Фурсова А.Ж. 227

Хантемирова М.Р. 155
Хантимерова Э.Ф. 135
Харламова А.В. 31, 59
Хегай И.И. 156
Хлебодарова Т.М. 180
Хлесткина Е.К. 201, 211
Хрущева А.С. 110
Хусаинова Р.И. 151
Хуснутдинова Э.К. 135, 140, 151

Цыбко А.С. 66, 86

Чадаева И.В. 178
Чекалова Т.М. 63
Черникова В.В. 205
Черникова Д.С. 131
Чернявский А.М. 158
Чикаев Н.А. 157
Чуркина Т.В. 152

Шаманина М.Ю. 129
Шарыпова Е.Б. 178
Шатохин К.С. 32
Шахтшнейдер Е.В. 158
Шевела А.И. 150
Шевцова А.А. 104
Шевченко А.И. 108
Шепелева Д.В. 25
Ширяева Н.В. 87
Шихевич С.Г. 25, 61, 71, 88
Шишкина Г.Т. 67
Шмаков В.Н. 205
Шуленина Л.В. 159
Шумный В.К. 207
Шундрин И.К. 204

Щелкунов С.Н. 160

Юдин Н.С. 33, 40, 139
Юдина М.А. 23, 97, 101, 111
Юрченко А.А. 40

Яковлева Т.В. 89
Яринич Л.А. 103

Abbasov M.A. 212
Acland G.M. 43
Adonyeva N.V. 92
Afonnikov D.A. 190
Aftanas L.I. 235, 243
Akopyan A.A. 239
Albayrak T. 112
Aleksandrova E.A. 91
Amagai Y. 213
Amstislavskaya T.G. 165, 232, 233, 246
Andreenkova O.V. 92
Andreeva E.A. 114
Andreyeva E.N. 126
Andreyushkova D.A. 113
Antonets K.S. 114, 115, 120
Archakov A.I. 123
Artemov G.N. 195
Azarakhsh M. 220

Babenko V.N. 182, 192
Badaeva E.D. 213
Baricheva E.M. 122
Battulin N.R. 121
Beklemisheva A.A. 235
Beklemisheva V.R. 43, 113
Belichenko V.M. 232, 246
Belousov M.V. 115
Belyaev N.D. 246
Berger T. 243
Biltueva L.S. 113
Blinov A. 125
Bocharov A.V. 238
Bogomolov A.G. 183
Boldyreva L.V. 118
Bondar N.P. 90
Bondarev S.A. 115, 116, 127, 184
Bragin A.O. 182, 185, 187, 192, 193
Brusentsov I.I. 163
Bryzgalov L.O. 163
Burenkova O.V. 91

Carrier D.R. 42
Chadaeva I.V. 46, 182, 186, 193, 197
Chang C.-C. 242
Chang H.-M. 245
Chase K. 42
Chen A.C. 233
Chen L.-Y. 245
Chiu P.Y. 234, 240, 241, 242
Clark A.G. 43

Danilenko K.V. 235
Degtyareva A.O. 163

Demenkov P.S. 229, 230
Dergilev A.I. 187
Dobrovolskaya O.B. 213
Dodueva I.E. 220
Doroshkov A.V. 190
Drozdova P.B. 117
Druzhkova A.S. 113
Dubatolova T.D. 126

Efimov A.I. 187
Elisafenko E.A. 214
Eremeeva N. 125
Eremeeva N.I. 166
Eremina M.A. 92
Ershov N.I. 90
Evtushenko E.V. 214

Fedorova E.V. 122
Fedoseeva L.A. 232, 246
Feng S. 43
Filatova E.N. 196
Fishman V.S. 121
Franciscus R.G. 44, 51
Frenkel Z. 222
Fursova A.Z. 164

Gadetskaia E.V. 235
Gancheva M.S. 220
Gasimov K.G. 216
Gatzkaya S.S. 214
Gerasimova S.V. 217
Glagoleva A.Yu. 215, 224
Gordeev M.I. 41
Graphodatsky A.S. 43, 113
Grigor'eva E.V. 124
Gruntenko N.E. 92
Gulevich R.G. 43

Hanamshet K. 119
Hekman J.P. 43
Herbeck Yu. 43
Ho Y.J. 232, 233, 236, 237, 240, 241, 242, 245
Houben A. 214
Hua M.-S. 247

Ignatieva E.V. 167, 188
Igolkina A.A. 189
Igoshin A.V. 167
Ilgisonis E.V. 123
Inge-Vechtomov S.G. 114
Ivanisenko T.V. 229
Ivanisenko V.A. 229, 230
Ivankin A.V. 118

- Ivanova K.A. 217
IWGSC 222
- J**
Jafarov H.R. 216
Johnson J.L. 43
Ju J. 248
- K**
Kajava A.V. 116, 184
Kanzafarova R.F. 162
Kao P.F. 233, 237
Katokhin A.V. 161
Kazantseva A.V. 162
Keskin H. 119
Kharlamova A.V. 42, 43, 44, 51
Khlestkina E.K. 165, 215, 217, 224
Khusnutdinova E.K. 162
Kim H.G. 242
Kiseleva A.A. 218, 222
Kiseleva Ya.Yu. 123
Klimova N.V. 46, 186, 197
Kliver S.F. 114
Knyazev D.I. 196
Knyazev G.G. 238
Kochetov A.V. 217
Koepfli K.-P. 43
Kolchanov N.A. 230
Kolodkin A. 194
Kolosova N.G. 164
Konopatskaia I. 125
Konovalova N.A. 230
Konovalova O.S. 230
Konstantinov D.K. 190
Kopylov A.T. 123
Korbolina E.E. 163
Korol A. 222
Korolenko T.A. 239
Korotkova A.M. 217
Kosolapova A.O. 115
Koster J.G. ('Anneke') 191
Kozhemyakina R.V. 46, 192, 197
Kozhevnikova E.N. 118
Kozhevnikova O.S. 164
Kozlov V.E. 219
Krasikova A.V. 121
Krasnikov A.A. 213
Kravchenko M.A. 166
Krivosheina N.I. 197
Kukekova A.V. 43
Kulemzina A.I. 113
Kuo C.C. 233
- L**
Lai T.-J. 240, 241, 242
Lark K.G. 42
- Lavrik I.N. 230
Lebedev M.O. 118, 122, 126
Lebedeva L.I. 118
Lebedinskaia M.Y. 235
Leberfarb E.Yu. 163
Lepeshko A.A. 90
Li H.-H. 240, 241, 242
Lin C.-L. 240, 241, 242
Lin M.-S. 236
Lipikhina Y.A. 214
Lipina T.V. 243
Lisitsa A.V. 123
Liu H.Y. 244
Liu S. 43
Liu Y.-C. 245
Lu F.-J. 241
Lu K.T. 244
Lutova L.A. 220
- M**
Maddux S.D. 44, 51
Mai F.-D. 245
Mak T.W. 243
Maksiutenko E.M. 127
Makunin A.I. 113
Markel A.L. 45, 182, 185, 186, 192
Martinek P. 213
Maslova A.V. 121
Mazin A.V. 119
Mazina O.M. 119
Mazurina E.P. 46, 197
Merkulova T.I. 90, 163
Mormede P. 47
Moskaev A.V. 41
Muterko A.F. 213, 221, 222
- N**
Naumenko A.N. 195
Naumenko F.M. 187
Nesterov M.A. 222
Nikolenko E.D. 235
Nizhnikov A.A. 114, 115, 120
Nuriddinov M.A. 121
Nuzhdin S.V. 189
- O**
O'Brien S.J. 43
Ogienko A.A. 122
Orlov Y.L. 182, 185, 187, 192, 213
- P**
Pavlov K.S. 165
Perelman P.L. 43
Petrovskaya O.V. 193
Pindyurin A.V. 118, 122, 126
Podkolodnyy N.L. 183
Poleshuk O.I. 116, 184

- Polev D.E. 114
 Polly P.D. 48
 Ponomarenko E.A. 123
 Ponomarenko M.P. 213
 Popova K.I. 213
 Poverennaya E.V. 123
 Pupyshev A.B. 239
- R**adko S.P. 123
 Rando H.M. 43
 Rauschenbach I.Yu. 92
 Renn T.-Y. 245
 Reshetnikov V.V. 90
 Roder J.C. 243
 Romanenko S.A. 113
 Rubtsov N.B. 183
 Ryabushkina Yu.A. 90
 Ryzhkova A.S. 232
- Sahin N. 194
 Saik O.V. 193, 229, 230
 Sakharov N.A. 196
 Salina E.A. 218, 221, 222, 223
 Salse J. 213
 Saltykova I.V. 161
 Samsonova M.G. 189
 Savostyanov A.N. 238
 Schischkina A.A. 223
 Serdyukova N.A. 43, 113
 Sergeeva E.M. 222
 Serov O.L. 121
 Seryapina A.A. 93
 Sharakhov I.V. 195
 Sharakhova M.V. 195
 Shcherban A.B. 223
 Shen C.Y. 233
 Shepeleva D.V. 43
 Shevchenko A.I. 124
 Shevelev O.B. 93
 Shoeva O.Yu. 224
 Shumny V.K. 217
 Shuvalova A.R. 114
 Skornyakov S.N. 166
 Solntsev L.A. 196
 Southard T.E. 44, 51
 Spitsina A.M. 183
 Stegny V.N. 195
 Storici F. 119
 Strygina K.V. 223
 Subbotin V.M. 94
- Tabanyuhov K.A. 46, 197
 Tai C.T. 233
- Telegina D.V. 164
 Tenditnik M.V. 165
 Terenina E.E. 47
 Tikhonova M.A. 165, 232, 233, 239, 246
 Titov I.I. 198
 Tiys E.S. 193, 229
 Trifonov V.A. 113
 Trubitsina N.P. 127
 Trut L.N. 42, 43, 44, 51
 Tsukanov A.V. 187
 Tsvetkova V.D. 196
 Tunçel T. 112
- Ufimtseva E.G. 166
 Utkin O.V. 196
- Vakhrusheva D.V. 166
 Vasiliev G.V. 186
 Vavilova V. 125
 Velavan T.P. 161
 Vershinin A.V. 214
 Vladimirova A.V. 42, 43
 Voloshina M.A. 49, 52
 Vorozheykin P.S. 198
- Wang W.H. 233, 247
 Wang X. 43
 Watanabe N. 213
 Weng J.C. 233, 236
 Weng J.H. 237
 Westerhoff H.V. 194, 199
 Wilkins A.S. 50
 Wo P.Y.Y. 244
 Wood E.K. 44, 51
- Xiang X. 43
 Xiong Z. 43
- Yang Y.L. 244
 Yao L. 248
 Yarinich L.A. 118, 122, 126
 Yudin N.S. 167
 Yurchenko A.A. 195
- Zakharenko L.P. 52
 Zakharova I.S. 124
 Zakian S.M. 124
 Zarayskaya I.Yu. 91
 Zemlyanko O.M. 127
 Zgoda V.G. 123
 Zhang G. 43
 Zhou Q. 248
 Zhouravleva G.A. 115, 116, 117, 127, 184

Научное издание

БЕЛЯЕВСКИЕ ЧТЕНИЯ
Международная конференция,
посвященная 100-летию со дня рождения академика АН СССР Д.К. Беляева

Тезисы докладов

Издается в авторской редакции

BELYAEV CONFERENCE
A triumphant event in commemoration
of the centenary of the birth of Academician Dmitri Belyaev

Abstracts

Printed without editing

Выпуск подготовлен информационно-издательским отделом ИЦиГ СО РАН
Начальник отдела *Т.Ф. Чалкова*
Компьютерная верстка *Т.Б. Коняхина*
Дизайн обложки *А.В. Харкевич*

Подписано в печать 14.07.2017. Формат 70 × 108 ¹/₁₆.
Бумага офсетная. Усл. печ. л. 22,4. Тираж 500 экз. Заказ № 164

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук» (ИЦиГ СО РАН)
630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10
Отпечатано в типографии ФГУП «Издательство СО РАН»
630090, Новосибирск, Морской проспект, 2