МЕЖДУНАРОДНЫЙ ТОМОГРАФИЧЕСКИЙ ЦЕНТР
ИНСТИТУТ ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ И ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ
ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

Тезисы II Международной
научно-практической конференции

ПОСТГЕНОМНЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА В БИОЛОГИИ, ЛАБОРАТОРНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ: ГЕНОМИКА, ПРОТЕОМИКА, БИОИНФОРМАТИКА

14–17 НОЯБРЯ
НОВОСИБИРСК, 2011

Организационный комитет

Председатель конференции

Сагдеев Ренад Зиннурович, первый заместитель председателя СО РАН, академик РАН

Заместители председателя

Власов Валентин Викторович, директор Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, академик РАН

Киселев Михаил Филиппович, заместитель руководителя Федерального медико-биологического агентства, д.б.н.

Кирпичников Михаил Петрович, декан биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, председатель ВАК, академик РАН

Колчанов Николай Александрович, директор Института цитологии и генетики СО РАН, академик РАН

Ткачук Всеволод Арсеньевич, декан факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В. Ломоносова, академик РАН и РАМН

Ответственный секретарь

Гордеев Александр Игоревич, генеральный директор компании «Парк-медиа»

Руководитель программного комитета

Говорун Вадим Маркович, заместитель директора НИИ физико-химической медицины ФМБА России, д.б.н., профессор

Члены оргкомитета

Арчаков Александр Иванович, директор НИИ биомедицинской химии РАМН, академик РАМН

Биленкина Инна Петровна, заместитель министра образования и науки РФ

Быков Виктор Александрович, генеральный директор компании «Нанотехнология-МДТ», д.т.н., профессор

Вареник Валерий Иванович, начальник Управления организации научных исследований ФМБА России

Васильев Андрей Валентинович, заместитель директора Института биологии и развития им. Н.К. Кольцова РАН, д.б.н.

Гинцбург Александр Леонидович, директор НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, академик РАМН

Иванов Вадим Тихонович, директор Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, академик РАН

Ковальчук Михаил Валентинович, директор НИЦ «Курчатовский институт» РАН, член-корреспондент РАН

Макаров Александр Александрович, директор Института молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, академик РАН

Народицкий Борис Савельевич, заместитель директора НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, д.б.н., профессор

Недоспасов Сергей Артурович, заведующий кафедрой иммунологии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, член-корреспондент РАН

Нетесов Сергей Викторович, проректор по научной работе Новосибирского государственного университета, член-корреспондент РАН, доктор биологических наук, профессор

Панин Александр Николаевич, директор Всероссийского государственного научно-исследовательского института контроля, стандартизации и сертификации ветеринарных препаратов МСХ, член-корреспондент РАСХН

Пузырев Валерий Павлович, директор НИИ медицинской генетики СО РАМН, академик РАМН

Севастьянов Виктор Иванович, профессор биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова

Северинов Константин Викторович, заведующий лабораторией молекулярной генетики микроорганизмов Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, д.б.н.

Скрябин Константин Георгиевич, директор Центра «Биоинженерия» РАН, академик РАН

Сухих Геннадий Тихонович, директор научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии РАМН, член-корреспондент РАМН

Чехонин Владимир Павлович, заведующий отделом функциональной и прикладной нейробиологии ГНЦ социальной и судебной экспертизы им. В.П. Сербского

Шестаков Сергей Васильевич, г.н.с. кафедры генетики биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, академик РАН

УДК 575.112 : 575.113 : 616
П631

ISBN 978-5-91291-006-7

© МТЦ СО РАН
© ИХБФМ СО РАН, 2011
© ИЦиГ СО РАН, 2011

Локальный оргкомитет

Руководитель

к.б.н. Кабилов Марсель Расимович (ИХБФМ СО РАН)

Члены рабочего комитета

к.б.н. Афонников Д.А. (ИЦиГ СО РАН)
к.б.н. Беликова Е.Б. (ИХБФМ СО РАН)
Жиловская И.Н. (ИХБФМ СО РАН)
Зубова С.В. (ИЦиГ СО РАН)
д.б.н. Ильина Е.Н. (НИИ ФХМ ФМБА)
к.б.н. Киселева Г.Н. (ИЦиГ СО РАН)
к.б.н. Кострюкова Е.С. (НИИ ФХМ ФМБА)
к.б.н. Матушкин Ю.Г. (ИЦиГ СО РАН)
к.б.н. Орлов Ю.Л. (ИЦиГ СО РАН)
Пустовалова Е. (ООО “Парк-медиа”)
д.х.н. Центалович Ю.П. (МТЦ СО РАН)

E-mail: postgenom@niboch.nsc.ru
Тел. (383) 363-51-56, 363-49-87

Организаторы

Федеральное медико-биологическое агентство

Сибирское отделение Российской академии наук

НИИ физико-химической медицины ФМБА России

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

ООО «Парк-медиа»

Научный совет по биоинформатике СО РАН

Институт цитологии и генетики СО РАН

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

При поддержке

Министерства образования и науки РФ

Российской академии медицинских наук

Российского фонда фундаментальных исследований

Спонсоры

www.khimexpert.ru

www.lifetechnologies.com

www.helicon.ru

www.interlabservice.ru

www.dia-m.ru

spektronika.ru

www.absciex.com

www.bio-rad.ru

www.bruker.com

www.ruschembio.ru

www.roche.ru

СОДЕРЖАНИЕ

Геномика

ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ АНТИСМЫСЛОВЫХ ПЕПТИДНЫХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ (PNA), ИММОБИЛИЗОВАННЫХ НА НАНОЧАСТИЦЫ ДИОКСИДА ТИТАНА (TiO_2)
Амирханов Н.В., Мазуркова Н.А., Зарытова В.Ф......150

МЕТАТАКСОНОМИЯ ДЛЯ МЕТАГЕНОМИКИ: A SIMPLEX PROBLEM
Дольник А.С., Таймазян Г.С., Першина Е.В., Вяткина К.В., Порозов Ю.Б., Пинаев А.Г., Андронов Е.Е......151

АНАЛИЗ СВЯЗИ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ КОНТРОЛЯ КЛЕТОЧНОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ РАКА ЛЕГКИХ И ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ
Аткарская М.В., Логинов В.И., Заварыкина Т.М., Бурдённый А.М., Казубская Т.П., Жижина Г.П., Брага Э.А......152

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ ОРТО-АМИНОАЗОТОЛУОЛА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ *CAR, PPARA, PPARG* И *UGT1A1* В ПЕЧЕНИ И УРОВЕНЬ ФНО-А В КРОВИ У ЛИНИЙ МЫШЕЙ, ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ И РЕЗИСТЕНТНЫХ К ХИМИЧЕСКОМУ ГЕПАТОКАНЦЕРОГЕНЕЗУ
Багинская Н.В., Кашина Е. В., Шаманина М.Ю......153

РОЛЬ ГЕНОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В РАЗРАБОТКЕ СТАНДАРТОВ ИДЕНТИФИКАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ, ЗНАЧИМЫХ ДЛЯ ОБЩЕСТВЕННОГО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
Воронина О.Л., Лунин В.Г., Гинцбург А.Л......154

НОВЫЕ БИОМИШЕНИ И ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ СКРИНИНГА ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ – ОСНОВА СОЗДАНИЯ ЭФФЕКТИВНЫХ ЛЕКАРСТВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ
Даниленко В.Н......155

THE RETROVIRAL APPROACH FOR SELECTION OF ENHANCER-BLOCKING ELEMENTS WITHIN VERTEBRATE GENOMES
Didych D.A., Smirnov N.A., Akopov S.B., Nikolaev L.G., Sverdlov E.D......156

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ОБРАЗЦОВ ДРЕВНЕЙ ДНК КОСУЛИ СИБИРСКОЙ ДЕНИСОВОЙ ПЕЩЕРЫ: ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ С СОВРЕМЕННЫМИ ПОПУЛЯЦИЯМИ
Дружкова А.С......157

АНАЛИЗ СВЯЗИ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ РАКА ЛЕГКИХ И ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ
Заварыкина Т.М., Логинов В.И., Аткарская М.В., Бурдённый А.М., Казубская Т.П., Брага Э.А., Жижина Г.П......158

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОМОВ M. *TUBERCULOSIS* И *N. GONORRHOEAE* ДЛЯ ВЫЯСНЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ ВИРУЛЕНТНОСТИ
Ильина Е., Икрянникова Л., Шитиков Е., Малахова М., Камашев Д., Алексеев Д., Лапин К., Парфенова Т., Опарина Н., Агафонов И., Бодоев И., Смирнова Т., Ларионова Е., Черноусова Л., Белецкий А., Равин Н., Говорун В......159

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПРОВЕРКА ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ DRE-САЙТОВ, ОБНАРУЖЕННЫХ В ПРОМОТОРАХ *IL12A, IL12B* И *IL4* ГЕНОВ ЧЕЛОВЕКА.
Кашина Е.В., Антонцева Е.В., Лопатникова Ю.А., Ощепкова Е.А., Ощепков Д.Ю., Фурман Д.П., Мордвинов В.А......160

РАСПОЗНАВАНИЕ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ SF-1 И SREBP В ГЕНОМАХ ПОЗВОНОЧНЫХ С ПОМОЩЬЮ НОВОГО ПОДХОДА, СОЧЕТАЮЩЕГО ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ
Климова Н.В., Левицкий В.Г., Ощепков Д.Ю., Игнатьева Е.В., Васильев Г.В., Меркулова Т.И......161

ПОВЫШЕНИЕ УРОВНЯ СВОБОДНО ЦИРКУЛИРУЮЩЕЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК ПЛАЗМЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АДРЕНАЛИНОВОМ МИОКАРДИТЕ
Судаков Н.П., Попкова Т.П., Катышев А.И., Новикова М.А., Гольдберг О.А., Никифоров С.Б., Константинов Ю.М......162

УЧАСТИЕ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ МЕТАБОЛИЗМ И РЕЦЕПЦИЮ СЕРОТОНИНА, В МОЛЕКУЛЯРНОМ МЕХАНИЗМЕ ДЕЙСТВИЯ НОВОГО ПСИХОТРОПНОГО ПРЕПАРАТА ГИДРОХЛОРИДА 8-ТРИФТОРМЕТИЛ-1,2,3,4,5-БЕНЗОПЕНТАТЕПИН-6 АМИНА
Куликов А.В., Тихонова М.А., Куликова Е.А., Волчо К.П., Салахутдинов Н.Ф., Попова Н.К......163

РОЛЬ ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ И ЦИТОКИНОВ В ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ И ЕЕ КЛИНИЧЕСКИМ ПРОЯВЛЕНИЯМ У ДЕТЕЙ
Макарова С.И., Вавилин В.А., Сафронова О.Г., Филиппенко М.Л., Фрейдин М.Б......164

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ПАЛЕОГЕНЕТИКИ ДЛЯ ЭТНОГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕКОНСТРУКЦИЙ
Пилипенко А.С., Молодин В.И., Журавлев А.А., Трапезов Р.О., Ромащенко А.Г......165

ВЫЯВЛЕНИЕ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ, МЕЧЕННЫХ НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА, НА ПОВЕРХНОСТИ МИКРОЧИПОВ МЕТОДОМ СКАНИРУЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ
Преснова Г.В., Рубцова М.Ю., Преснов Д.Е., Егоров А.М......166

ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ РНК ПЛАЗМЫ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ И ПАЦИЕНТОВ С НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО. АНАЛИЗ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНЫМ ПАРАЛЛЕЛЬНЫМ СЕКВЕНИРОВАНИЕМ НА ПЛАТФОРМЕ SOLiD
Семенов Д.В., Барякин Д.Н., Бреннер Е.В., Курильщиков А.М., Козлов В.В., Наров Ю.Э., Васильев Г.В., Чикова Е.Д., Филиппова Ю.А., Брызгалов Л.А., Кулигина Е.В., Рихтер В.А.....167

ТЕСТИРОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ТРАНСГЕННЫХ КОЗ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ Г-КСФ И ГМ-КСФ ЧЕЛОВЕКА
Бурков И.А., Серова И.А., Баттулин Н.Р., Смирнов А.В., Андреева Л.Е., Хайдарова Н.В., Серов О.Л......168

АНАЛИЗ ИЗМЕНЧИВОСТИ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО (мтДНК) ГЕНОМА ЧЕЛОВЕКА НА СТЫКЕ СИБИРИ, СЕВЕРНОЙ ЯПОНИИ И АЛЯСКИ В ЭВОЛЮЦИОННОМ КОНТЕКСТЕ
Сукерник Р.И., Стариковская Е.Б., Володько Н.В......169

Протеомика

ЭЛЛИПСОМЕТРИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ПАТОЛОГИИ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ЧЕЛОВЕКА (ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)
Воевода М.И., Пельтек С.Е., Кручинина М.В., Курилович С.А., Кручинин В.Н., Рыхлицкий С.В., Могильников К.П......170

ИДЕНТИФИКАЦИЯ САЙТОВ АЦЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕМОГЛОБИНА ЧЕЛОВЕКА ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТОЙ
Дубровский Я.А., Шрейнер Е.В., Мурашко Е.А., Подольская Е.П., Бабаков В.Н......171

ПОИСК ПЕПТИДНЫХ БИОМАРКЕРОВ СОЦИАЛЬНО ЗНАЧИМЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ
Зиганшин Р.Х., Арапиди Г.П., Азаркин И.В., Ковальчук С.И., Зарядьева Е.А., Иванова О.М., Говорун В.М., Иванов В.Т......172

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОМАРКЕРОВ В КОНДЕНСАТАХ ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА БОЛЬНЫХ С ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ МЕТОДАМИ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ
Рябоконь А.М., Киреева Г.Х., Курова В.С., Кононихин А.С., Пикин О.В., Багров В.А., Варфоломеев С.Д......173

ИММУННЫЙ ГОМЕОСТАЗ ПОСЛЕ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ПРОЛОНГИРОВАННОГО СОЧЕТАННОГО ОБЛУЧЕНИЯ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ ДОЗОВОЙ НАГРУЗКИ
Кириллова Е.Н., Захарова М.Л., Павлова О.С., Лукьянова Т.В......174

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ БЕЛКА NIP7 МЕЛКОВОДНЫХ И ГЛУБОКОВОДНЫХ АРХЕЙ РОДА *PYROCOCCUS* ПОД ВЛИЯНИЕМ ВЫСОКОГО ДАВЛЕНИЯ И ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ МЕТОДАМИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ
Медведев К.Е., Афонников Д.А......175

ПРОТЕОМНЫЙ ОТВЕТ ЛЕГКИХ МЫШИ НА ДЕЙСТВИЕ ТАРКОСИЛА
Мошкин М.П, Пельтек С.Е......176

МНОГООБРАЗИЕ ИНТЕГРАЗА-ГИДРОЛИЗУЮЩИХ IGG И IGM АНТИТЕЛ ИЗ КРОВИ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ
Невинский Г.А., Дмитренок П.С., Бунева В.Н......177

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ТЕРАГЕРЦОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ЖИВЫЕ СИСТЕМЫ (НА ПРИМЕРЕ *E. COLI*)
Пельтек С.Е., Мещерякова И.В., Демидова Е.В., Горячковская Т.Н., Банникова С.В., Демидов Е.А., Попик В.М., Малуп Т.К., Розанов А.С., Кулипанов Г.Н., Колчанов Н.А......178

Биоинформатика

КОМПЬЮТЕРНЫЙ АНАЛИЗ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО ЭКСПРЕССИРУЮЩИХСЯ ГЕНОВ У КРЫС ГИПЕРТЕНЗИВНОЙ ЛИНИИ НИСАГ
Александрович Ю.В., Орлов А.В., Пыльник Т.О., Смоленская С.Э., Редина О.Е., Орлов Ю.Л., Маркель А.Л......179

METHOD OF MOLECULAR DYNAMICS FOR PROTEINS IN THE IONIZATION-CONFORMATION PHASE SPACE IN WATER AT CONSTANT pH
Vorobjev Y.N......180

РАЗРАБОТКА И ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОГРАММНОГО ПАКЕТА ОЦЕНКИ МЕЖВИДОВОГО СХОДСТВА РЕГУЛЯТОРНЫХ РАЙОНОВ ГЕНОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ АППАРАТНЫХ АРХИТЕКТУР
Бочарников А.В., Вишневский О.В......181

ВСТРЕЧАЕМОСТЬ НЕСТРУКТУРИРОВАННЫХ МОТИВОВ И ПОВТОРОВ ИЗ ШЕСТИ АМИНОКИСЛОТ В ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ И БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРОТЕОМАХ
Лобанов М.Ю., Галзитская О.В......182

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОСНОВА МАКРОЭВОЛЮЦИОННЫХ ПРЕОБРАЗОВАНИЙ – ИССЛЕДОВАНИЕ РЕЖИМОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЭВОЛЮЦИИ ОРТОЛОГИЧНЫХ БЕЛКОВ ПОЗВОНОЧНЫХ И БЕСПОЗВОНОЧНЫХ
Гунбин К.В., Суслов В.В., Афонников Д.А......183

ОСОБЕННОСТИ РЕКОНСТРУКЦИИ *DE NOVO* БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЕНОМОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СЕКВЕНИРУЮЩИХ ПЛАТФОРМ 454 FLX GENOME SEQUENCER И ABI SOLiD
Курильщиков А.М., Бреннер Е.В., Фоменко Н.В......184

ПРОГРАММНЫЕ СРЕДСТВА ДЛЯ МНОГОУРОВНЕВОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ЭВОЛЮЦИИ ПРО- И ЭУКАРИОТ
Лашин С.А., Суслов В.В., Матушкин Ю.Г......185

АНАЛИЗ ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРЫ ВНУТРЕННЕГО ТРАНСКРИБИРУЕМОГО СПЕЙСЕРА (ITS) ДНК РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА CRASSULACEAE - ТОЛСТЯНКОВЫЕ
Никулин В.Ю., Гончаров А.А......186

АНАЛИЗ ДАННЫХ МАССОВОЙ ИММУНОПРЕЦИПИТАЦИИ ХРОМАТИНА С ПОМОЩЬЮ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ВЕРИФИЦИРОВАННЫХ МЕТОДОВ РАСПОЗНАВАНИЯ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ FoxA
Ощепков Д.Ю., Левицкий В.Г., Кулаковский И.В., Ершов Н.И., Васильев Г.В., Меркулова Т.И......187

МЕТОД СБОРКИ ГЕНОМНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ НА ОСНОВЕ СОВМЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ГРАФОВ ДЕ БРЮИНА И ГРАФОВ ПЕРЕКРЫТИЙ
Александров А.В., Казаков С.В., Мельников С.В., Сергушичев А.А., Царев Ф.Н......188

АВТОМАТИЧЕСКАЯ РЕКОНСТРУКЦИЯ АССОЦИАТИВНЫХ ГЕННЫХ СЕТЕЙ НА ПРИМЕРЕ АНАЛИЗА ПРОТЕОМА МОЧИ
Тийс Е.С., Деменков П.С., Доброхотов И.В., Валеева О.А., Пастушкова Л.Х., Николаев Е.Н., Ларина И.М., Колчанов Н.А., Иванисенко В.А......189

ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ АНТИСМЫСЛОВЫХ ПЕПТИДНЫХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ (PNA), ИММОБИЛИЗОВАННЫХ НА НАНОЧАСТИЦЫ ДИОКСИДА ТИТАНА (TiO_2)

Амирханов Н.В[1]., Мазуркова Н.А[2]., Зарытова В.Ф[1].
[1] *Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, Россия*
[2] *ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор», Новосибирская область, р.п. Кольцово, Россия*

С целью доставки антисмысловых пептидных нуклеиновых кислот (PNA) в эукариотические клетки осуществлена нековалентная иммобилизация PNA в виде комплементарного гибридного PNA/ДНК дуплекса на наночастицы диоксида титана (TiO_2), обработанные полилизином (PL). Показана принципиальная возможности доставки PNA в составе такого нанокомпозита, полученного с использованием TiO_2 наночастиц, в эукариотические клетки без использования специальных трансфектантов.

Исследована противовирусная активность полученных нанобиокомпозитов на культуре клеток MDCK, инфицированных вирусом гриппа А человека (подтип H3N2). Исследованы нанобиокомпозит TiO_2/PL-DNA/PNA, содержащий фрагмент PNA, комплементарный участку вирусной РНК и аналогичный нанокомпозит, содержащий некомплементарную последовательность PNA**.** Показано, что нанобиокомпозит TiO_2-PL-DNA/PNA, содержащий комплементарную последовательность PNA, обладает высокой противовирусной активностью в отношении вируса гриппа А человека. Индекс нейтрализации вируса с помощью этого нанобиокомпозита составил 2.7 (степень подавления вируса – 99.8%), в то время как в случае некомплементарной последовательности нанокомпозит TiO_2-PL-DNA/PNA, содержащий некомплементарную последовательность PNA, вообще не проявил противовирусной активности.

Таким образом, показано, что наночастицы диоксида титана способны доставлять антисмысловые PNA в эукариотические клетки и после доставки проявлять высокую биологическую активность, выраженную в эффективном подавлении размножения вирусных частиц в клетке.

Авторы выражают благодарность Байбородину С. И. за помощь в проведении конфокальной флуоресцентой микроскопии образцов клеток.

Работа поддержана интеграционным грантом СО РАН № 61, РФФИ № 08-04-01045-а, а также Государственным контрактом № 16.512.11.2267.

МЕТАТАКСОНОМИЯ ДЛЯ МЕТАГЕНОМИКИ: *A SIMPLEX PROBLEM*

Дольник А.С.[1], Таймазян Г.С.[1], Першина Е.В.[2], Вяткина К.В.[3], Порозов Ю.Б.[4], Пинаев А.Г.[2], **Андронов Е.Е.**[2]
[1] *СПбГУ, Санкт-Петербург*
[2] *ГНУ ВНИИСХМ, Санкт-Петербург*
[3] *СПб АУ НОЦНТ РАН, Санкт-Петербург*
[4] *СПбГУ ИТМО, Санкт-Петербург*

Современные исследования в области метагеномики микробных сообществ требуют принципиально новых подходов к анализу таксономических данных. Решением данной проблемы было бы создание «метатаксономии» – интегрального способа анализа, дающего возможность описания таксономической структуры сложных микробных сообществ как единого целого. Для реализации данной задачи нами была предпринята попытка сконструировать «эволюционное пространство» гена 16S рРНК, в котором нуклеотидные последовательности гена представлены точками, а расстояния между ними соответствуют эволюционным дистанциям. Формально данная задача заключается в размещении матрицы попарных расстояний в метрическом пространстве. Как оказалось, данная проблема достаточно сложна, так как затрагивает целый ряд непростых проблем эволюционной биологии, таксономии и геометрии. Для понимания и решения данной проблемы очень полезным оказалось представление о правильных симплексах – *n*-мерных обобщениях равностороннего треугольника, использование которого позволяет сделать очевидным тот факт, что основные эволюционные паттерны могут быть непредставимы в пространствах малой размерности. Перспективы использования указанных подходов могут привести к введению целого ряда интегральных характеристик микробных сообществ, таких как центральная точка, объем, плотность, геометрия. Очевидны также перспективы создания универсальной «таксономической карты», в которой фиксированные места получат все, в том числе неатрибутированные таксоны. Создание такой карты позволит привлечь в анализ микробных сообществ окружающей среды такие мощные статистические подходы как распознавание образов, что может оказаться очень полезным для изучения тонких связей между свойствами окружающей среды и характером микробиоты.

Работа поддержана грантом Миннауки РФ (ГК№ 16.512.11.2132), РФФИ (09-04-00386а) и Программой поддержки фундаментальных исследований по приоритетным направлениям СПбГУ

АНАЛИЗ СВЯЗИ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ КОНТРОЛЯ КЛЕТОЧНОЙ ПРОЛИФЕРАЦИИ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ РАКА ЛЕГКИХ И ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

Аткарская М.В.[1], Логинов В.И.[2], Заварыкина Т.М.[1], Бурдённый А.М.[1], Казубская Т.П.[3], Жижина Г.П.[1], Брага Э.А.[2]
[1] *ИБХФ РАН, Москва*
[2] *ГНЦ РФ ФГУП ГосНИИгенетика, Москва*
[3] *РОНЦ им.Н.Н. Блохина РАМН, Москва*

Задачи исследования. Для обеспечения стабильности генома и предотвращения злокачественной трансформации клеток наиболее важны ген-онкосупрессор *TP53*, а также регулятор его активности ген *MDM2*. В данной работе исследовалась ассоциация полиморфных вариантов генов *TP53* и *MDM2* с риском возникновения рака легкого (РЛ) и верхних дыхательных путей (ВДП) у жителей Московского региона (66 здоровых и 133 больных раком, из них 88 – РЛ и 39 – раком ВДП).

Материалы и методы. Проводилось определение частот полиморфных маркеров *Arg72Pro* гена *TP53* и *T(-412)G* гена *MDM2* методом анализа полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ).

Результаты. Показана ассоциация полиморфных маркеров *Arg72Pro* гена *TP53* и *T(-412)G* гена *MDM2* с повышенным риском развития РЛ (*Pro/Pro* – *OR*=3,21 и *T/G* – *OR*=19,74, соотв.) и его гистологического подтипа аденокарциномы (АКЛ) (*Pro/Pro* – *OR*=5,32 и *T/G* – 24,4, соотв.). Кроме того, для полиморфного маркера *T(-412)G* гена *MDM2* выявлена ассоциация с повышенным риском развития плоскоклеточного РЛ (*T/G* – *OR*=21,9). Повышенный риск развития рака ВДП показан для носителей генотипа *Pro/Pro* гена *TP53* (*OR*=9,38). Кроме того, показано, что наличие генотипа *Pro/Pro* гена *TP53* и *T/G* гена *MDM2* связано с риском возникновения РЛ как у некурящих (*OR*=4,06 и *OR*=21,2, соотв.), так и у курящих лиц (*OR*=2,59 и *OR*=26,6, соотв.). В подгруппах больных РЛ старше 60 лет носительство генотипов *Pro/Pro* гена *TP53* и *T/G* гена *MDM2* повышает риск заболевания (*OR*=4,18 и *OR*=28,34, соотв.) относительно группы контроля среднего возраста (48±1 лет). В случае больных моложе 60 лет повышение риска справедливо только для маркера гена *MDM2* (*OR*=20,04).

Выводы. Исследованные полиморфные маркеры генов *TP53* и *MDM2* тесно связаны с повышенным риском возникновения рака ВДП и рака легкого (как у курящих, так и у некурящих, а также больных старшего возраста) и его основных гистологических типов.

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ ОРТО-АМИНОАЗОТОЛУОЛА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ *CAR*, *PPARA, PPARG* И *UGT1A1* В ПЕЧЕНИ И УРОВЕНЬ ФНО-А В КРОВИ У ЛИНИЙ МЫШЕЙ, ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ И РЕЗИСТЕНТНЫХ К ХИМИЧЕСКОМУ ГЕПАТОКАНЦЕРОГЕНЕЗУ

Багинская Н.В., Кашина Е. В., Шаманина М.Ю.
ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск

Орто-аминоазотолуол (ОАТ) является сильным гепатоканцерогеном для большинства линий мышей. Ранее мы установили, что мыши линий CC57BR, резистентной к канцерогенному действию ОАТ, и DD, чувствительной к его воздействию, отличаются базальным уровнем экспрессии ряда генов ядерных рецепторов (ЯР) (Пивоварова и др. 2010), экспрессия которых по-разному изменяется в ответ на однократное введение ОАТ (Багинская и др. 2009). В данной работе исследовалось влияние хронического введения ОАТ на экспрессию генов ЯР *CAR*, *PPARa, PPARg* и их гена-мишени УДФ-глюкуронозилтрансферазы (*Ugt1a1*) - фермента 2 фазы детоксикации ксенобиотиков, в связи с выраженностью воспалительной реакции у мышей линий CC57BR/Mv (BR) и DD/He (DD).

Самцам мышей обеих линий в течение 2 месяцев 4-кратно вводили масляный раствор ОАТ в дозе 225мг/кг веса тела. Животных забивали через 1 и 4 суток после последнего введения ОАТ. Экспрессию генов в печени определяли методом ПЦР в реальном времени. Степень воспалительной реакции оценивали в те же сроки по концентрации фактора некроза опухоли альфа (ФНОа) в сыворотке крови.

Через сутки после введения ОАТ у мышей обеих линий значительно повышалась концентрация ФНОа, что свидетельствует о развитии воспалительной реакции. На этом сроке экспрессия *CAR*, *PPAR*s и *Ugt1a1* снижалась у мышей BR, тогда как у мышей DD экспрессия ЯР практически не менялась, а экспрессия *Ugt1a1* увеличивалась. На 4 сутки у мышей линии BR уровень ФНОа возвращался к норме, тогда как у линии DD он был по-прежнему повышен. На этом сроке экспрессия *PPARg* возвращалась к контрольному уровню у мышей BR, а экспрессия гена *Ugt1a1* не отличалась от контроля у мышей обеих линий.

Таким образом, нами впервые было показано, что при хроническом введении ОАТ у мышей CC57BR развивается кратковременная воспалительная реакция, сопровождающаяся снижением экспрессии *CAR*, *PPARa* и *PPARg* и *Ugt1a1*. В отличие от этого, у мышей DD на фоне более длительного воспаления происходит повышение экспрессии *Ugt1a1*, при неизменённой или слегка повышенной экспрессии *CAR*, *PPARa* и *PPARg*.

Работа поддержана грантом РФФИ №11-04-00545-а

РОЛЬ ГЕНОМНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ В РАЗРАБОТКЕ СТАНДАРТОВ ИДЕНТИФИКАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ, ЗНАЧИМЫХ ДЛЯ ОБЩЕСТВЕННОГО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

Воронина О.Л., Лунин В.Г., Гинцбург А.Л.
ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздравсоцразвития России, Москва

Для снижения заболеваемости населения важны 2 направления деятельности здравоохранения – профилактика заболеваний и контроль эпидемиологического состояния окружающей среды, в том числе и внутрибольничной. Оба направления сопряжены с микробиологическими исследованиями. В первом – это контроль штаммов пробиотических препаратов и стартерных культур для заквасок, а также вакцинных штаммов микроорганизмов; во втором - идентификация и изучение возбудителей инфекций.

Прежде всего, необходима видовая идентификация микроорганизмов. Поскольку, по мнению E. Stackebrandt, применение молекулярных методов позволяет осуществлять строгий контроль описания видов, мы ввели в практику идентификации секвенирование фрагментов генома бактерий и показали, что для видовой идентификации штаммов пробиотических микроорганизмов, а именно близкородственных видов бифидобактерий и лактобацилл, эффективно применение секвенирования 2-х фрагментов генома 16S rDNA и одного из консервативных генов домашнего хозяйства. Для идентификации условно-патогенных микроорганизмов родов *Staphylococcus*, *Legionella*, *Pseudomonas* достаточно одной мишени, достоверно дифференцирующей виды.

При выявлении микроорганизмов, циркулирующих в стационарах, проведении эпидрасследований вспышек заболеваний, контроле природно-очаговых инфекций важна идентификация штаммов. Для патогенных и условно патогенных микроорганизмов видов *Staphylococcus epidermidis*, *S. haemolyticus*, *Legionella pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa*. *Leptospira interrogans*, *L. kirschneri* мы апробировали мультилокусное секвенирование с использованием как ранее опубликованных, так и разработанных нами методик. Дополнительной характеристикой штаммов условно-патогенных микроорганизмов является также описание интегронов и других мобильных элементов.

Перчисленные выше подходы необходимы при ведении коллекций микроорганизмов, особенно таких разнообразных, как собиравшаяся десятилетиями коллекция НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи.

Однако для контроля вакцинных штаммов анализа фрагментов генома не достаточно. Учитывая изменчивость штаммов при культивировании, мы предполагаем использовать полногеномное секвенирование для анализа и отбора штаммов, наиболее эффективных в профилактике заболеваний.

НОВЫЕ БИОМИШЕНИ И ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ СКРИНИНГА ХИМИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ – ОСНОВА СОЗДАНИЯ ЭФФЕКТИВНЫХ ЛЕКАРСТВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

Даниленко В.Н.
УРАН ИОГен РАН, Москва

В рамках Российской академии наук начато формирование сети биологического скрининга (СБС) (http://www.rnnbs.ru/). Приоритетным для деятельности СБС является создание прототипов лекарств нового поколения для лечения социально важных заболеваний, в том числе: инфекционных болезней и злокачественных опухолей. Механизм действия таких препаратов – инактивация внутриклеточных мишеней, важных для вирулентности и выживания бактерий, а также жизнеспособности опухолевых клеток. Такими мишенями являются серин/треониновые протеинкиназы (СТПК), F_0F_1АТФсинтаза и элементы каскадов программированной гибели бактерий и опухолевых клеток. Мы сконструировали ряд оригинальных тест-систем на основе бактериальных клеток для прескрининга ингибиторов СТПК и F_0F_1АТФсинтазы [1]. Кроме этого, мы разработали новую экспериментальную модель индукции апоптозоподобной программированной гибели бактерий, используя стратегию одновременного ингибирования двух внутриклеточных мишеней. Важно, что сконструированные тест-системы позволяют проверять вещества в клеточном “контексте”, что более адекватно, чем бесклеточные системы. Тест-системы могут быть быстро адаптированы для проверки ингибиторов СТПК и F_0F_1АТФсинтаз многих патогенных микроорганизмов [2]. Скрининг сфокусированных библиотек низкомолекулярных соединений позволил отобрать лидерные соединение для дальнейшего доклинического исследования в качестве кандидатов для противотуберкулезных и противораковых препаратов [3,4].

Литература:

1. Bekker O.B. et al. // ActaNaturae. 2010. V.2. №3(6). P.110-121.
2. Danilenko V.N. et al. // J. Med. Chem. 2008. V.51. №24. P.7731-7736.
3. Anizon F. et al. // Curr. Med. Chem. 2010. V.17. №34. P.4114-4133.
4. Danilenko V.N. et al. // Curr. Top. Med. Chem. 2011. V.11. №11. P.1352-1369.

THE RETROVIRAL APPROACH FOR SELECTION OF ENHANCER-BLOCKING ELEMENTS WITHIN VERTEBRATE GENOMES

Didych D.A., Smirnov N.A., Akopov S.B., Nikolaev L.G., Sverdlov E.D.
IBCh RAS, Moscow

Enhancer-blocking elements are negative regulatory elements that control interactions between promoters and enhancers. Previously, we developed an experimental approach to identify enhancer-blockers within long genomic sequences using stable transfection by means of electroporation. The approach exploits an ability of enhancer-blockers to prevent activation of promoters by enhancers when located between these elements, and a positive-negative selection procedure with the use of the neomycin-resistance gene and the herpes simplex virus thymidine kinase gene (HSV-*tk*) under control of CMV minimal promoter and CMV enhancer. Importantly, this approach allows identifying of enhancer-blocking sequences in constructions stably integrated into the genome. Using this approach we identified and mapped several potential enhancer-blocking elements within 1 Mb locus on human chromosome 19.

In this work we constructed a self-inactivating retroviral vector with the cassette containing the neomycin-resistance gene (positive selection) under control of mouse phosphoglycerate kinase promoter (mPGK1) and the herpes simplex virus thymidine kinase (HSV-*tk*) gene (negative selection) under control of CMV minimal promoter and CMV enhancer. Using this newly generated system for positive-negative selection we analyzed the 1 Mb region on human chromosome 19. A pool of short (200–1000 bp) fragments with the PCR primer introduced at both ends, which overlap a 1 Mb human chromosome 19 region, were cloned into retroviral vector between CMV minimal promoter and CMV enhancer, thus forming a pool of retroviral plasmids. The plasmids were transfected into packaging cells, and the pool of retroviruses obtained was further used for infection of CHO cells. After positive-negative selection of CHO cells several new potential enhancer-blocking elements were identified and mapped. The enhancer-blocking activity of some identified sequences in HeLa cells was analyzed with transient transfection luciferase assay.

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ОБРАЗЦОВ ДРЕВНЕЙ ДНК КОСУЛИ СИБИРСКОЙ ДЕНИСОВОЙ ПЕЩЕРЫ: ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВЗАИМООТНОШЕНИЯ С СОВРЕМЕННЫМИ ПОПУЛЯЦИЯМИ

Дружкова А.С.
ОМКБ ИХБФМ СО РАН, Новосибирск

Существует два вида косули (***Capreolus*** Gray, 1821): косуля европейская (***C. Capreolus***) и косуля сибирская (***C. pygargus***), которые различаются морфологически и кариотипически. Косуля сибирская занимает обширную территорию в Азии, но значительно менее изучена, чем европейские косули. До сих пор остается спорным разделение косули сибирской на 4 морфологических подвида. В Денисовой пещере (Алтай, Южная Сибирь) среди многочисленных костных останков разных обнаружено большое количество костных фрагментов косули сибирской, датируемых от настоящего времени до позднего плейстоцена.

Мы проанализировали фрагмент контрольного района митохондриальной ДНК в 629 п.н. из 14 ископаемых образцов косули сибирской из Денисовой пещеры, а также 37 современных образцов, взятых из популяций Алтая, Тянь-Шаня (Киргизия), Якутии, Новосибирской области и Дальнего Востока России.

Генеалогические реконструкции показали, что большинство гаплотипов голоцена, вероятно, являются предками современных популяций косуль Западной Сибири и Тянь-Шаня и Якутии. Большинство современных географических популяций (за исключением Западно-Сибирской равнины) являются неоднородными по составу, но есть некоторые предварительные свидетельства их структурированности. Низкое генетическое разнообразие западносибирской популяции указывает на эффект основателя.

Наши данные показывают, что в течение последних 50000 лет происходило несколько замен популяций косули сибирской в горах Алтая, соответствующие климатическим изменениям. Косуля сибирская представляет собой сложный гетерогенный вид с высоким уровнем миграции.

АНАЛИЗ СВЯЗИ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ С РИСКОМ РАЗВИТИЯ РАКА ЛЕГКИХ И ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

Заварыкина Т.М.[1], Логинов В.И.[2], Аткарская М.В.[1], Бурдённый А.М.[1], Казубская Т.П.[3], Брага Э.А.[2], Жижина Г.П.[1]
[1] *ИБХФ РАН, Москва*
[2] *ГНЦ РФ ФГУП ГосНИИгенетика, Москва*
[3] *РОНЦ им.Н.Н. Блохина РАМН, Москва*

Задачи исследования. Наиболее значимую роль в этиологии злокачественные новообразования легких и верхних дыхательных путей играет воздействие факторов окружающей среды, канцерогенный потенциал которых зависит от активности ферментов биотрансформации ксенобиотиков (ФБК). Основными в системе ФБК являются семейства цитохрома и глутатион-S-трансфераз (GST). Целью данной работы являлось определение ассоциации полиморфных маркеров генов *CYP1A1* (ген цитохрома р450) и генов трех классов GST (*GSTM1*, *GSTT1, GSTP1*) с риском развития рака легких (РЛ) и верхних дыхательных путей (ВДП) у жителей Московского региона (66 здоровых и 133 больных раком, из них 88 – РЛ и 39 – раком ВДП).

Материалы и методы. Проводилось определение частот нулевых генотипов *GSTT1* и *GSTM1* путем выявления делеций частей генов и частот полиморфных маркеров *Ile-105Val* гена *GSTP1* и *Ile462Val* гена *CYP1A1* методом ПДРФ.

Результаты. Показана ассоциация риска возникновения РЛ, связанного с носительством генотипа *0/0* гена *GSTT1* (*OR*=3,28) и *Ile/Val* полиморфного маркера *Ile105Val* гена *GSTP1* (*OR*=2,03). Выявлена связь генотипа *0/0* гена *GSTT1* высоким риском возникновения аденокарциномы (АКЛ) и плоскоклеточного РЛ (ПКРЛ) - гистологических типов РЛ (*OR*=5,36 и *OR*=2,81, соотв.). Обнаружена ассоциация нулевого генотипа гена *GSTT1* с риском развития рака легкого у курильщиков (*OR* = 5,36) и лиц старше 60 лет (*OR* = 6,03). Для маркера *Ile105Val* гена *GSTP1* показано, что носительство аллеля *Val* связано с повышенным риском развития АКЛ (*OR* = 1,92).

Выводы. Выявлена ассоциация нулевого генотипа гена *GSTT1* с риском развития рака легкого, его гистологических форм АКЛ и ПКРЛ, в группе старшего возраста и при хроническом курении. Для генотипа *Ile/Val* гена *GSTP1* такая ассоциация обнаружена как в случае общей группы больных РЛ, так и в случае АКЛ.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОМОВ *M. TUBERCULOSIS* И *N.GONORRHOEAE* ДЛЯ ВЫЯСНЕНИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ ВИРУЛЕНТНОСТИ

Ильина Е.[1], Икрянникова Л.[1], Шитиков Е.[1], Малахова М.[1], Камашев Д.[1], Алексеев Д.[1], Лапин К.[1], Парфенова Т.[1], Опарина Н.[1], Агафонов И.[1], Бодоев И.[1], Смирнова Т.[2], Ларионова Е.[2], Черноусова Л.[2], Белецкий А.[3], Равин Н.[3], Говорун В.[1]

[1]*НИИ Физико-Химической Медицины ФМБА, Москва*

[2] *Центральный НИИ туберкулеза РАМН, Москва*

[3] *Центр «Биоинженерия» РАН, Москва*

Сегодня на фоне реализации многочисленных геномных проектов, особенно в области геномики микроорганизмов, основные надежды в области расшифровки молекулярных механизмов вирулентности и резистентности патогенов, а также в поиске новых мишеней для лекарственной терапии возлагают на интерпретацию получаемых данных полногеномного секвенирования.

Нами накоплен уникальный опыт по осуществлению и интерпретации данных полногеномного секвенирования клинических изолятов *M. tuberculosis*, обладающих чувствительным, мультирезистентным и широкорезистентным фенотипами, а также изолятов *N. gonorrhoeae*, проявляющих различный спектр лекарственной устойчивости. Эти бактерии являются представителями диаметральных вариантов встречающихся в природе микробных популяций: *M. tuberculosis* формируют мономорфную, с низким уровнем изменчивости популяцию, тогда как *N. gonorrhoeae* наряду с другими представителями рода Neisseria реализует панмиктическую модель популяции с высоким уровнем обмена генетической информации.

Сравнительный анализ полученных данных полногеномного секвенирования позволил выдвинуть новые теории, объясняющие молекулярные основы вирулентности и резистентности проанализированных патогенов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ПРОВЕРКА ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ DRE-САЙТОВ, ОБНАРУЖЕННЫХ В ПРОМОТОРАХ *IL12A*, *IL12B* И *IL4* ГЕНОВ ЧЕЛОВЕКА.

Кашина Е.В.[1], Антонцева Е.В.[1], Лопатникова Ю.А.[2], Ощепкова Е.А.[1], Ощепков Д.Ю.[1], Фурман Д.П.[1,3], Мордвинов В.А.[1]
[1]*ИЦиГ СО РАН, Новосибирск*
[2]*НИИКИ СО РАМН, Новосибирск*
[3]*НГУ, Новосибирск*

Введение. 2,3,7,8-тетрахлордибензо-р-диоксин (ТХДД) является лигандом арилгидрокарбонового рецептора (AhR). Комплекс лиганд:AhR:Arnt функционирует как транскрипционный фактор, связываясь со специфической последовательностью на ДНК, называемой DRE (dioxin response element) в регуляторных районах генов-мишеней. С помощью биоинформатического метода SITECON были исследованы регуляторные районы *IL12A, IL12B* и *IL4* генов человека, где были обнаружены потенциальные DRE. Целью данного исследования была проверка функциональности предсказанных сайтов, используя методы гель-ретардации, ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) и иммуноферментного анализа (ИФА).

Материалы и методы. Ядерный экстракт, РНК и супернатант были получены после культивирования макрофагоподобных клеток линии U937, обработанных 2nM концентрацией ТХДД. Связывание транскрипционного комплекса ТХДД:AhR:Arnt из ядерным экстракта с двухцепочечными олигонуклеотидными ^{32}P-меченым зондами, содержащими потенциальные DRE, изучали используя метод гель-ретардации. Выделенную РНК использовали для изучения изменений в уровнях экспрессии *IL12A, IL12B* и *IL4* генов с помощью ПЦР-РВ в присутствии SYBR Green I.

Полученные результаты. Результаты гель-ретардации подтвердили, что AhR вовлечен в образование ДНК/белковых комплексов. Результаты ПЦР-РВ и ИФА демонстрируют изменение уровней экспрессии *IL12A, IL12B* и *IL4* генов при воздействии 2nM концентрации ТХДД. Совокупность полученных результатов подтверждает функциональную активность предсказанных ранее DRE, расположенных в регуляторных районах генов *IL12A, IL12B* и *IL4* через Ah-рецепторный путь передачи сигналов.

РАСПОЗНАВАНИЕ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ SF-1 И SREBP В ГЕНОМАХ ПОЗВОНОЧНЫХ С ПОМОЩЬЮ НОВОГО ПОДХОДА, СОЧЕТАЮЩЕГО ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Климова Н.В., Левицкий В.Г., Ощепков Д.Ю., Игнатьева Е.В., Васильев Г.В., Меркулова Т.И.
ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск

Распознавание сайтов связывания транскрипционных факторов (ССТФ) на ДНК необходимо для идентификации и изучения регуляторных районов отдельных генов, интерпретации данных массовых анализов транскриптома и для решения многих других задач. Применяемые в настоящее время к решению этой задачи биоинформатические подходы, основанные на использовании компьютерных методов распознавания ССТФ, пока дают довольно скромные результаты. Очевидно, что эффективность этих подходов может существенно возрасти при сочетании их с экспериментальными методами, однако такие работы единичны.

Актуальными моделями для создания подходов по поиску сайтов связывания представляются транскрипционные факторы: SF-1 - один из основных регуляторов экспрессии генов системы стероидогенеза и SREBP, играющий важную роль в поддержании гомеостаза холестерина и метаболизме жирных кислот. Для поиска новых сайтов связывания SF-1 были использованы компьютерные методы SiteGA, основанный на выявлении контекстных особенностей ДНК, SITECON, основанный на выявлении конформационных и физико-химических характеристик функциональных сайтов ДНК и SiteGA, совмещённый с оптимизированной динуклеотидной весовой матрицей (SiteGA+PWM). Поиск сайтов SREBP проводился методом SITECON.

С помощью сочетания компьютерных и экспериментальных методов в генах позвоночных животных выявлены ранее неизвестные ССТФ SF-1 (41 сайт в 19 генах) и SREBP (23 сайта в 15 генах), что подтверждает высокую эффективность использования комбинированного подхода к исследованию регуляторных районов генов. На основе экспериментально-верифицированного метода SiteGA разработан подход для полномасштабного поиска в геномах млекопитающих потенциальных генов – мишеней SF-1, позволяющий успешно предсказывать новые ткани и органы, в которых можно ожидать экспрессию этого фактора. С помощью такого подхода в геноме человека выделено несколько новых групп генов, регулируемых транскрипционным фактором SF-1. Экспериментально показано, что суммарно методы SiteGA, SITECON и SiteGA+PWM выявляют больше реально существующих сайтов SF-1, чем каждый метод в отдельности. Нами разработан новый подход по поиску ССТФ SF-1, основанный на использовании сочетания этих биоинформатических методов.

Работа поддержана ФЦП ГК 02.740.11.0705.

ПОВЫШЕНИЕ УРОВНЯ СВОБОДНО ЦИРКУЛИРУЮЩЕЙ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК ПЛАЗМЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АДРЕНАЛИНОВОМ МИОКАРДИТЕ

Судаков Н.П.[1,3,4], Попкова Т.П.[4], Катышев А.И.[2], Новикова М.А.[1,3], Гольдберг О.А.[1], Никифоров С.Б.[1], **Константинов Ю.М.**[2,3]
[1]НЦРВХ СО РАМН, г. Иркутск
[2]СИФИБР СО РАН, г. Иркутск
[3]ФГБОУ ВПО ИГУ, г. Иркутск
[4]ГУЗ ИОКБ, г. Иркутск

Эффективность профилактики и терапии сердечно-сосудистых заболеваний определяется развитием технологий их ранней диагностики. Решение этих проблем зависит, главным образом, от разработки новых биомаркеров ранних внутриклеточных нарушений миокарда. Целью исследования явилось изучение уровня митохондриальной ДНК (мтДНК) плазмы как неинвазивного биомаркера ранних метаболических нарушений кардиомиоцитов при экспериментальном адреналиновом миокардите. В работе использованы две группы крыс линии «Вистар»: (1) контрольная группа (n=6, подкожное введение физ. раствора), (2) экспериментальный миокардит (n=6, подкожное введение 0,2 мг адреналингидрохлорида на 100 г веса животного). Уровень мтДНК в несодержащей тромбоцитов плазме крыс определяли на 3-и сутки моделирования миокардита. Количественный анализ мтДНК проводили методом ПЦР в реальном времени с использованием амплификатора iCycler IQ4 (Bio-Rad, США). Амплифицировали фрагмент гена 16S рРНК (прямой праймер: 5’- TGCAGAAGC-TATTAATGGTTCG-3’, обратный праймер - 5’-TTGGCTCTGCCACCCTAATA-3’; реакционная смесь: MaximaTM SYBR Green/ROX qPCR Master Mix («Fermentas»). На 3-и сутки в миокарде животных, получавших инъекции адреналина, наблюдались (а) инфильтрация макрофагов и (б) множественные очаги лизиса мышечных волокон. На фоне данных морфологических изменений уровень свободно циркулирующей мтДНК плазмы животных этой группы составил $1{,}26 \times 10^7$ копий/мл, что было в 4 раза выше этой величины в контрольной группе ($3{,}04 \times 10^6$ копий/мл). Повышение уровня циркулирующей мтДНК в плазме крови при адреналиновом миокардите можно рассматривать, таким образом, как важный показатель внутриклеточных нарушений в условиях развития данного патологического процесса. В настоящее время проводится детальное исследование динамики содержания свободно циркулирующей мтДНК при адреналиновом повреждении миокарда с целью развития основанной на этом биомаркере технологии ранней диагностики и прогнозирования острых повреждений миокарда. Исследование получило финансовую поддержку в рамках Программы Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» (проект ФНМ-16).

УЧАСТИЕ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ МЕТАБОЛИЗМ И РЕЦЕПЦИЮ СЕРОТОНИНА, В МОЛЕКУЛЯРНОМ МЕХАНИЗМЕ ДЕЙСТВИЯ НОВОГО ПСИХОТРОПНОГО ПРЕПАРАТА ГИДРОХЛОРИДА 8-ТРИФТОРМЕТИЛ-1,2,3,4,5-БЕНЗОПЕНТАТЕПИН-6 АМИНА

Куликов А.В.[1], Тихонова М.А.[1], Куликова Е.А.[1], Волчо К.П.[1], Салахутдинов Н.Ф.[2], Попова Н.К.[1]
[1]*ИЦиГ СО РАН, Новосибирск*
[2]*НИОХ СО РАН, Новосибирск*

Изучение молекулярного механизма действия психотропных препаратов (анксиолитиков, антидепрессантов, антипсихотиков) является приоритетной задачей современной молекулярной психофармакологии. Ранее было показано, что синтезированный в Новосибирском институте органической химии СО РАН синтетический аналог варацина 8-трифторметил-1,2,3,4,5-бензопентатепин-6 амин (ТХ-2153) оказывает анксиолитическое и противосудорожное действие [1,2]. Целью данного исследования было изучение роли серотониновой (5-НТ) медиаторной системы головного мозга в молекулярном механизме действия ТХ-2153. Препарат (10 мг/кг, per os, 16 суток) вводили половозрелым самцам мышей созданной в Институте цитологии и генетики СО РАН линии ASC (Antidepressant Sensitive Catalepsy) с наследственными нарушениями функции мозга и поведения. С помощью количественной ОТ-ПЦР определяли экспрессию генов, кодирующих ключевой фермент синтеза 5-НТ в мозге триптофангидроксилазу 2 (ТПГ2), трансмембранный белок-транспортер 5-НТ, фермент разрушения медиатора моноаминоксидазу А (МАОА) и 5-$НТ_{1A}$ рецептор. Было установлено, что ТХ-2153 подавляет экспрессию генов МАОА и 5-$НТ_{1A}$ рецептора в среднем мозге. Однако препарат не влияет на экспрессию этих генов в коре и гиппокампе. Не обнаружено влияния ТХ-2153 на экспрессию генов ТПГ2 и белка-транспортера в среднем мозге. Полученный результат свидетельствует об участии 5-НТ системы мозга в механизме действия ТХ-2153.

Работа поддержана Междисциплинарным интеграционным проектом СО РАН (грант №18).

Цитируемая литература:

1. Khomenko et al. Lett in Drug Design & Discovery, 2009, V.6, P.464-467.
2. Khomenko et al. Lett Org Chem, 2011, V. 8, P.193-197.

РОЛЬ ГЕНОВ ФЕРМЕНТОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ КСЕНОБИОТИКОВ И ЦИТОКИНОВ В ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЕ И ЕЁ КЛИНИЧЕСКИМ ПРОЯВЛЕНИЯМ У ДЕТЕЙ

Макарова С.И.[1], Вавилин В.А.[1], Сафронова О.Г[1]., Филиппенко М.Л.[2], Фрейдин М.Б.[3]
НИИМББ СО РАМН, г. Новосибирск
ИХБФМ СО РАН, г. Новосибирск
НИИМГ СО РАМН, г. Томск

В последние десятилетия на фоне увеличивающейся антропогенного загрязнения окружающейся среды растёт заболеваемость бронхиальной астмой (БА) во всём мире. Ферменты биотрансформации ксенобиотиков (ФБК) могут играть роль в развитии заболевания, а так как они участвуют также и в метаболизме эндогенных интермедиатов воспаления, то и в патогенезе БА. Так как БА в большинстве случаев является атопическим заболеванием, что обусловливает ее развитие через IgE-зависимый механизм, то патогенезе БА большое значение придают суперсемейству интерлейкинов. Профиль цитокинов при астме характеризуется дисбалансом между Th1 – специфичными (IL2, TNF-ά, TNF-β) и Th2 – специфичными (IL4, IL5, IL6, IL9, IL13) интерлейкинами. Полиморфизм генов ФБК и генов цитокинов могут формировать как предрасположенность к БА, так и особенности её клинического течения. В работе исследовался полиморфизм генов *CYP1A1*, *NAT2*, *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, *IL1RN*, *IL4*, *IL5*, *IL4R* методами ПДРФ анализа и аллель специфичной ПЦР в группах больных БА и здоровых детей. Использовался показатель отношение шансов (OR) для оценки ассоциации БА генотипом. Межгенные взаимодействия изучались сопоставлением величин OR и методом Multifactor Dimentionality Reduction (MDR). Показано, что гены ФБК играют более значимую роль в предрасположенности к БА, тогда как гены цитокинов в формировании клинических проявлений БА, таких как, тяжесть течения раннее развитие, наличие поливалентной и повышенный уровень эозинофилов в периферической крови. Таким образом, вероятность заболевания БА конкретного пациента зависит от его генотипа по локусам генов ФБК, а то, как именно он будет болеть, зависит от его генотипа по локусам генов цитокинов.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ПАЛЕОГЕНЕТИКИ ДЛЯ ЭТНОГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕКОНСТРУКЦИЙ

Пилипенко А.С.[1], Молодин В.И.[2], Журавлев А.А.[1], Трапезов Р.О.[1], Ромащенко А.Г.[1]
[1]*ИЦиГ СО РАН, Новосибирск.*
[2]*ИАЭТ СО РАН, Новосибирск.*

Реконструкция процессов формирования современных этнических групп остается актуальной задачей молекулярной генетики. Значимые для этногенеза групп процессы протекали в течение нескольких последних тысячелетий. Для каждой группы эти процессы в определенной степи специфичны и определяются сложной совокупностью факторов, таких как их изоляция на разных этапах, направленность и выраженность их этнокультурных взаимодействий и ряда других. Таким образом, история каждой группы населения (разного масштаба) представляет собой сложную цепь событий, конечным итогом которых стало формирования ее этноспецифичности, в частности, состава генофонда. Традиционный подход к решению задач этногенетических реконструкций связан с анализом структуры генофонда современных популяций. В этом случае многоступенчатые процессы реконструируются по их конечному результату. Несмотря на безусловную информативность этот подход позволяет реконструировать лишь основные действующие факторы этногенеза группы и сталкивается с большими трудностями в случае существования в отдельные периоды истории группы разнонаправленных (зачатую, противоположно направленных) факторов.

Принципиально новые возможности открываются с применением методов палеогенетики, позволяющих непосредственно исследовать структуру генофонда населения определенной территории в ее временной динамике. Нами предпринята попытка реконструировать динамику структуры генофонда митохондриальной ДНК населения лесостепной зоны Западной Сибири на протяжении нескольких тысячелетий в эпоху неолита и бронзы (VI – начало I тысячелетия до н.э.) и интерпретировать ее в терминах ранних этапов этногенеза населения Западной Сибири.

В докладе также будут рассмотрены сложности, с которыми сталкивается данное направление палеогенетических исследований и обозначены перспективы его развития.

ВЫЯВЛЕНИЕ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ, МЕЧЕННЫХ НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА, НА ПОВЕРХНОСТИ МИКРОЧИПОВ МЕТОДОМ СКАНИРУЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ

Преснова Г.В.[1], **Рубцова М.Ю.**[1], Преснов Д.Е.[2,3], Егоров А.М.[1]
[1] *Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва*
[2] *НИИ Ядерной Физики МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва*
[3] *Физический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва*

Способность комплементарных одноцепочечных фрагментов ДНК к молекулярной гибридизации лежит в основе многих методов молекулярной биологии и активно используется для получения информации о структуре генома, установления и уточнения функций различных генов. В новейших направлениях исследований биоспецифических взаимодействий таких, как наносенсорика и других областях нанотехнологий значительную роль играют электроннолучевые методы. Целью данной работы явилась разработка метода выявления олигонуклеотидов и дуплексов ДНК на кремниевых микрочипах методом сканирующей электронной микроскопии с использованием наночастиц золота в качестве метки.

В работе была разработана методика ковалентной иммобилизации олигонуклеотидных зондов на микрочипах из кремния, предварительно очищенных кислородной плазмой и модифицированных 3-глицеропропилэпоксисиланом. Диаметр наносимой зоны микрочипа составлял 450 мкм. В исследуемые олигонуклеотиды вводили биотин, который затем выявляли на носителе конъюгатом стрептавидина с наночастицами золота. Размер наночастиц золота составлял 30 нм. Золотые наночастицы модифицировали меркаптоянтарной кислотой и затем к ним ковалентно присоединяли стрептавидин через доступные аминогруппы. Для выявления дуплексов ДНК, меченых наночастицами золота через комплекс биотин-стрептавидин, использовали электронный микроскоп SUPRA 40 (Carl Zeiss). Определение числа дуплексов ДНК проводили подсчетом числа наночастиц золота в зонах микрочипа после отмывки. Распределение дуплексов в каждой зоне микрочипа было равномерным. Площадь фрагмента зоны, в которой проводили расчет числа образовавшихся дуплексов ДНК, составляла 1500 нм^2. В качестве контроля использовали подсчет наночастиц в зоне без иммобилизованных зондов и в зоне с иммобилизованным зондом некомплементарной структуры. Было установлено, что для достижения высокой воспроизводимости анализа (коэффициент вариации не выше 10-12 %) число исследуемых фрагментов каждой зоны должно быть не менее трех. Соотношение числа дуплексов ДНК к фоновому значению составило 320±9, что может быть основой для создания высокочувствительных молекулярных детекторов ДНК.

ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ РНК ПЛАЗМЫ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ И ПАЦИЕНТОВ С НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО. АНАЛИЗ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНЫМ ПАРАЛЛЕЛЬНЫМ СЕКВЕНИРОВАНИЕМ НА ПЛАТФОРМЕ SOLiD

Семенов Д.В.[1], Барякин Д.Н.[1], Бреннер Е.В.[1], Курильщиков А.М.[1], Козлов В.В.[2], Наров Ю.Э.[2],Васильев Г.В.[3], Чикова Е.Д.[1], Филиппова Ю.А.[1], Брызгалов Л.А.[3], Кулигина Е.В.[1], Рихтер В.А[1]
[1]ИХБФМ СО РАН, Новосибирск
[2]ГБУЗ НСО «НООД», Новосибирск
[3]ИЦиГ СО РАН, Новосибирск

Известно, что в плазме крови человека присутствует обширный набор форм малых регуляторных РНК. В данной работе проведен анализ многообразия форм РНК плазмы крови 8-ми здоровых доноров и 4-х пациентов с немелкоклеточным раком легкого методом массового параллельного секвенирования на платформе SOLiD™.

Для получения кДНК-библиотек, кодирующих максимально полный набор форм циркулирующих РНК, короткие (n>19) РНК плазмы крови подвергали дефосфорилированию с последующим 5'-фосфорилированием, лигированию с адаптерами, обратной транскрипции и амплификации. Индивидуальные кДНК-библиотеки амплифицировали на микрочастицах и секвенировали на платформе SOLiD™ (V.3). Полученные массивы данных, содержащие от 31 до 85 млн. последовательностей на каждую кДНК-библиотеку, анализировали с помощью программного обеспечения ABI BioScope™, и, независимо, программами Bowtie/Cuf-flinks.

Было обнаружено, что в составе РНК плазмы крови человека присутствуют фрагменты рРНК, тРНК, мРНК, транскриптов митохондрий, зрелые миРНК, мцРНК, мяРНК, мяоРНК, а также фрагменты не аннотированных ранее транскриптов.

Детальный анализ массивов последовательностей позволил оценить вклад апоптотических телец, экзосом и микровезикул, свободных рибонуклеопротеидов, а также вклад различных клеток, органов и тканей в формирование набора циркулирующих РНК крови человека. Сравнительный анализ РНК плазмы здоровых доноров и пациентов с немелкоклеточным раком легкого позволил охарактеризовать изменения внеклеточного транскриптома человека при возникновении и развитии злокачественных опухолей.

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (гранты № 10-04-01386-а и 10-04-01442-а), грантом Президиума СО РАН № 18 (2009 - 2011 гг.).

ТЕСТИРОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ КОНСТРУКЦИЙ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ТРАНСГЕННЫХ КОЗ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ Г-КСФ И ГМ-КСФ ЧЕЛОВЕКА

Бурков И.А.[1], Серова И.А.[1], Баттулин Н.Р.[1], **Смирнов А.В.**[1], Андреева Л.Е.[2], Хайдарова Н.В.[2], Серов О.Л.[1]
[1] ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск
[2] ИМГ РАН, г. Москва

Одно из новейших направлений биотехнологии заключается в создании так называемых животных-биореакторов, - трансгенных сельскохозяйственных молочных животных, способных с молоком продуцировать ценные белки человека. Считается, что для обеспечения экономической выгоды, концентрация рекомбинантных белков в молоке таких животных должна составлять около 1-2 мг/мл. Однако, в случае получения пептидов, имеющих высокую биологическую активность (ростовые факторы, гормоны и др.), такие уровни продукции непригодны, ввиду того, что рекомбинантные белки могут нанести вред самому трансгенному животному. В соответствии с данными соображениями нами были созданы две генетические конструкции, способные обеспечить умеренную тканеспецифичную экспрессию гемопоэтических факторов Г-КСФ и ГМ-КСФ человека в тканях молочных желез трансгенных коз. Для предварительного тестирования данных конструкций нами было получено восемь трансгенных мышей, четыре из которых несли конструкцию pGoatcasGCSF, а еще четыре - конструкцию pGoatcasGMCSF. Полученные в дальнейшем трансгенные линии были подвергнуты детальному изучению. Результаты иммунофлуоресцентного и ОТ-ПЦР анализов свидетельствуют о высокой тканеспецифичности экспрессии генов Г-КСФ и ГМ-КСФ человека в молочных железах трансгенных мышей. Концентрация рекомбинантных белков в молоке трансгенных линий составила от 2 до 100 мкг/мл. Секретируемые в молоко белки обладали необходимым набором посттрансляционных модификаций и имели высокую колониестимулирующую активность. Методами количественной ПЦР и TAIL-ПЦР для каждой трансгенной линии также были определены копийность трансгенных встроек и места их интеграции в реципиентный геном. Для того чтобы определить, оказывает ли экспрессия трансгенов негативное воздействие на здоровье трансгенных животных нами был проведен анализ состава периферической крови, в результате которого не было обнаружено каких-либо различий между трансгенными и контрольными мышами. Полученные данные позволяют рекомендовать обе конструкции для получения трансгенных коз-биореакторов.

АНАЛИЗ ИЗМЕНЧИВОСТИ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО (мтДНК) ГЕНОМА ЧЕЛОВЕКА НА СТЫКЕ СИБИРИ, СЕВЕРНОЙ ЯПОНИИ И АЛЯСКИ В ЭВОЛЮЦИОННОМ КОНТЕКСТЕ

Сукерник Р.И., Стариковская Е.Б. и Володько Н.В.
ИХБФМ СО РАН, Новосибирск

Представлены краткие итоги многолетнего изучения изменчивости мтДНК в антропологических изолятах Сибири и Дальнего Востока в связи с реконструкцией эволюционных событий (миграции, генный дрейф, отбор) на стыке Старого и Нового Света. Детальный SNP-анализ, с последующим секвенированием >200 полных мтДНК-геномов, выполнен для 22 популяций, включая тубалар и челканцев Алтая, обских манси, енисейских кетов, нганасан Таймыра, юкагиров Колымы и Индигирки, тофалар Саянского нагорья, ульчей и негидальцев Нижнего Амура, нивхов Сахалина, чукчей и эскимосов Чукотки, алеутов о. Беринга. Результаты филогеографического анализа и возраст доминирующих мтДНК-гаплогрупп не всегда согласуются с археологическими датировками колонизации Сибири, Америки и Северной Японии [1; 2; 3]. Показательно, что возрастные оценки для редких мтДНК-вариантов, сохранившихся на территории Сибири/Берингии, приходятся на период до начала последнего ледникового максимума (20-18 тысяч лет назад). Обсуждаются перспективы изучения полного ядерного генома у коренных жителей Сибири в связи с расселением человека современного вида из предгорий Алтая.

Литература:

1. Starikovskaya EB, Sukernik RI, Derbeneva OA et al: Mitochondrial DNA diversity in indigenous populations of the southern extent of Siberia, and the origins of Native American haplogroups. Ann Hum Genet 2005; 69: 67-89.
2. Volodko NV, Starikovskaya YB, Mazunin IO et al: Mitochondrial Genome Diversity in Arctic Siberians, with Particular Reference to the Evolutionary History of Beringia and Pleistocenic Peopling of the Americas. Am J Hum Genet 2008; 82: 1084-1100.
3. Sukernik RI, Volodko NV, Mazunin IO et al. Mitochondrial Genome Diversity in the Tubalar, Even and Ulchi: Contribution to Prehistory of Native Siberians and their Affinities with Native Americans. (Eur J Hum Genet; на рецензии)

ЭЛЛИПСОМЕТРИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ПАТОЛОГИИ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ЧЕЛОВЕКА (ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Воевода М.И.[1], Пельтек С.Е.[1], Кручинина М.В.[2], Курилович С.А.[2], Кручинин В.Н.[3], Рыхлицкий С.В.[3], Могильников К.П.[3]
[1]ИЦГ СО РАН, г. Новосибирск
[2]НИИ терапии СО РАМН, г. Новосибирск
[3]ИФП СО РАН, г. Новосибирск

Цель работы - оценка диагностической значимости метода оптической эллипсометрии (спектральная эллипсометрия и плазмон-эллипсометрия) при изучении биоорганических сред в группах больных с диффузной патологией печени (ДПП) с различной степенью фиброза и злокачественными заболеваниями внутренних органов (опухоли кишечника).

Обследованы 48 человек в возрасте от 19 до 58 лет (36,5±2,49 года), из них 22 женщины и 26 мужчин с ДПП различного генеза. У 25 пациентов выявлен легкий невыраженный фиброз (F1-F2), у 23 - выраженный фиброз (F3-F4). Группу сравнения составили 12 человек (39,0±3,15 года) без патологии внутренних органов (F0). Также обследованы 4 мужчин (возраст от 47 до 58 лет) с опухолями кишечника в терминальных стадиях и пациент с исключенной онкологической патологией.

Методом спектральной эллипсометрии проведено исследование тонких пленок, полученных центрифугированием сывороток крови здоровых людей и пациентов с ДПП с разной степенью фиброза. Обнаружено, что физические свойства получаемых пленок зависят от биоорганического состава сыворотки крови, которое, в свою очередь, определяется патологическими процессами, протекающими при различной степени фиброза печени. Установлены достаточно выраженные корреляции между биохимическими параметрами сыворотки крови и измеряемыми эллипсометрическими показателями.

Проведены пилотные эллипсометрические эксперименты по исследованию сывороток крови в условиях наблюдения поверхностного плазмонного резонанса (ППР) у пациентов с опухолями кишечника. Выявлено наличие стойкого специфического взаимодействия между антигенами сывороток крови пациентов и моноклональными антителами СД24, которое приводит к изменению положения ППР в спектре и к заметным изменениям эллипсометрических углов.

Показано, что эллипсометрия представляет собой перспективный высокочувствительный и достаточно экономичный экспресс-метод скрининга и предварительной диагностики стадий заболевания у пациентов с патологией внутренних органов.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ САЙТОВ АЦЕТИЛИРОВАНИЯ ГЕМОГЛОБИНА ЧЕЛОВЕКА ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТОЙ

Дубровский Я.А.[1], Шрейнер Е.В.[2], Мурашко Е.А.[1], Подольская Е.П.[2], Бабаков В.Н.[2]

[1] *ФГУП НИИ ГПЭЧ ФМБА России, Санкт-Петербург*

[2] *УРАН ИАП РАН, Санкт-Петербург*

Белки и секретируемые пептиды могут приобретать различные посттрансляционные модификации аминокислот в полипептидной цепи. В настоящее время описано более ста посттрансляционных модификаций белков и пептидов. Такие модификации как фосфорилирование, гликозилирование, ацетилирование, как правило, имеют важное функциональное значение и влияют на биологические функции белков; ряд других модификаций не имеет функционального значения. Кроме того, посттрансляционные модификации секреторных белков возможны и неприродными соединениями, например, лекарственными средствами и другими органическими веществами.

На сегодняшний день для решения подобных задач успешно привлекаются методы масс-спектрометрии, позволяющие не только зафиксировать факт связывания белка с лекарственным препаратом, но и идентифицировать ковалентную модификацию.

Цель данной работы - выявить сайты ацетилирования глобина человека при инкубации 0.1 мг/мл АСК с цельной кровью в течение 3 часов.

Для выявления аддуктов исследовали триптический гидролизат

гемоглобина человека выделенного из цельной крови. Полученные гидролизаты в исследовали с помощью масс-спектрометра MALDI-TOF-TOF Axima Perfomance (Shimadzu/Kratos Analytical, Великобритания). В масс-спектрах проводили поиск сигналов, соответствующих ацетилированным триптическим пептидам глобина человека и имеющих сдвиг m/z в область больших масс на 42.01 Да. Для подтверждения модификации пептиды были проанализированы методом тандемной масс-спектрометрии с фрагментацией CID.

В результате удалось выявить ацетилированные лизины-17 и -57 в альфа-субъединице глобина человека после инкубации in vitro цельной крови человека с терапевтическими концентрациями АСК.

ПОИСК ПЕПТИДНЫХ БИОМАРКЕРОВ СОЦИАЛЬНО ЗНАЧИМЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ

Зиганшин Р.Х.[1], Арапиди Г.П.[1], Азаркин И.В., Ковальчук С.И.[1], Зарядьева Е.А.[1], Иванова О.М.[1], Говорун В.М.[1,2], Иванов В.Т.[1]
[1]*ИБХ РАН, Москва*
[2]*НИИФХМ ФМБА, Москва*

Исследования, направленные на выявление в плазме и сыворотке крови новых биомаркеров социально-значимых заболеваний человека с использованием масс-спектрометрических технологий, широко проводятся в мире с начала 2000-х годов. Одним из наиболее распространенных методических подходов, используемых в такого рода работах по сегодняшний день, является сравнительное масс-спектрометрическое профилирование плазмы/сыворотки крови. При этом сравниваемые группы образцов (одна из которых, как правило, состоит из образцов, полученных от практически здоровых доноров) подвергаются предварительному фракционированию той или иной разновидностью хроматографии, с последующим анализом получаемых фракций времяпролетной МАЛДИ масс-спектрометрией и построением на основе различных классификационных алгоритмов математических моделей, различающих масс-спектрометрические профили сравниваемых групп. Несмотря на многообещающие результаты этих исследований, выражающиеся в высоких значениях специфичности и чувствительности создаваемых классификационных моделей по отношению к сравниваемым группам масс-спектрометрических профилей, они до сих пор не привели к разработке прикладных решений в области клинической диагностики. В докладе будут представлены полученные нами результаты по сравнительному масс-спектрометрическому профилированию образцов сыворотки крови практически здоровых женщин, пациенток с раком яичников и женщин с различными доброкачественными гинекологическими заболеваниями, которые позволяют объяснить этот парадокс и предложить варианты его решения. Кроме того, в докладе будут отражены последние результаты нашей работы по идентификации пептидов в образцах сыворотки крови практически здоровых доноров, пациентов с колоректальным раком, раком яичников и сифилисом с использованием на конечной стадии анализа тандемной масс-спектрометрии, сопряженной с обращенофазной высокоэффективной нанопоточной жидкостной хроматографией (LC-nanoESI-QTOF MS/MS). В общей сложности при уровне ложноположительных результатов 5%, определенном по инвертированной базе данных SwissProt, нами было идентифицировано 2732 пептида, являющихся фрагментами 1778 белков.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОМАРКЕРОВ В КОНДЕНСАТАХ ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА БОЛЬНЫХ С ОНКОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ДЫХАТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ МЕТОДАМИ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Рябоконь А.М. [1], **Киреева Г.Х.** [1], Курова В.С. [1], Кононихин А.С. [1], Пикин О.В.[2], Багров В.А. [2], Варфоломеев С.Д. [1].
[1]ИБХФ РАН им. Н.М. Эмануэля, Москва
[2]МНИОИ им. П.А. Герцена, Москва

В последнее десятилетие растет интерес к использованию конденсатов выдыхаемого воздуха (КВВ) как простому неинвазивному методу получения образцов из нижних отделов дыхательных путей. Целью настоящей работы являлось определение возможных белковых маркеров в КВВ больных с онкологическими заболеваниями дыхательной системы.

Было исследовано 14 доноров: 6 здоровых некурящих волонтеров и 8 больных с верифицированными онкологическими заболеваниями дыхательной системы. Образцы конденсатов получали с помощью портативного одноразового приспособления - R-трубки (Respiratory Research, США). Лиофилизованные смеси белков КВВ гидролизовали трипсином и анализировали с применением нанопоточного хроматографа Agilent 1100 (Agilent Technologies, США), ионной ловушки и масс-спектрометра ионного циклотронного резонанса с высокой точностью и разрешением 7-Tesla Finnigan LTQ FT (ThermoElectron, Германия). Идентификацию белков по точным массам пептидов и их фрагментов проводили по результатам поиска по базам данных NCBInr при помощи программы Mascot (Matrix Science, Великобритания).

В КВВ обеих групп доноров определяется широкий спектр кератиновых и некератиновых белков. В пробах больных были обнаружены не встречающиеся у здоровых доноров белки: ядерный убиквитиновый казеин (NUCKS), принимающий участие в митозе клеток; глутамин синтетаза (GS), повышенное содержание которой связано со сверхсинтезом богатых азотом соединений; альфа-1антитрипсин (AAT) – ингибитор сериновых протеиназ (в основном, эластазы). Показана высокая экспрессия данных белков в новообразованиях различной этиологии.

У здоровых доноров встречаются пептиды, характеризующие белок сигналосома COP9, являющийся положительным регулятором убиквитина. Отсутствие данного белка у больных с онкологическими заболеваниями может говорить о нарушении убиквитиновой защиты клетки.

Таким образом, было показано, что в конденсатах выдыхаемого воздуха присутствуют белки, могущие служить биомаркерами онкологических заболеваний.

Методами масс-спектрометрии высокого разрешения было проведено сравнительное исследование белкового состава образцов конденсатов выдыхаемого воздуха здоровых некурящих доноров и больных с онкологическими заболеваниями дыхательной системы. Обнаружены белки, могущие служить биомаркерами онкологических заболеваний.

ИММУННЫЙ ГОМЕОСТАЗ ПОСЛЕ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ПРОЛОНГИРОВАННОГО СОЧЕТАННОГО ОБЛУЧЕНИЯ С РАЗНЫМ УРОВНЕМ ДОЗОВОЙ НАГРУЗКИ

Кириллова Е.Н., Захарова М.Л., Павлова О.С., Лукьянова Т.В.
ФГУП ЮУрИБФ ФМБА, г. Озерск, Челябинской области, Россия

Цель работы – оценка иммунного гомеостаза в отдаленном периоде профессионального облучения. В задачи исследования входило комплексное изучение содержания сывороточных и мембранных регуляторных белков разного механизма действия в крови работников атомного производства (>500 человек), подвергшихся пролонгированному профессиональному сочетанному радиационному воздействию (внутреннему α- и/или внешнему γ- облучению). Накопленные за весь период работы дозы внешнего облучения составляли от 0,02 до 4,9 Гр, а содержание Pu в организме от 0,03 до 35,10 кБк. Контрольная группа представлена жителями г. Озерска соответствующего возраста и пола, не подвергшихся профессиональному облучению. Возраст всех обследованных лиц был от 60 до 80 лет, поскольку дозы облучения, существенно превышающие предельный уровень радиационной нагрузки для профессионалов атомного производства, зарегистрированы у лиц пожилого возраста, работавших на атомном производстве в первые годы его создания. Методом ИФА в сыворотке крови исследована концентрация ростовых факторов, регулирующих пролиферацию и дифференцировку клеток: EGF, TGF-β1, TGF-α, FGF, HGF, PDGF, мультифункциональных интерлейкинов, про- и противовоспалительных цитокинов: IL-1 β, IL-2, IFN-γ, IFN-α,, IL-8, IL-6, IL-4, IL-10. При оценке протеинового статуса у облученных лиц наиболее информативными были ростовые факторы, отмечен дисбаланс про- и противовоспалительных цитокинов. На проточном цитофлюориметре исследовали количество Т-лимфоцитов (Т-л), Т-хелперов (Т-х), Т-киллеров (Т-к), регуляторных Т-л, двойных отрицательных или двойных положительных Т-л, активированных Т-л, натуральных киллеров, ТНК-л, В-л. Изменение содержания сывороточных и мембранных регуляторных белков зависело от вида и уровня облучения, при низких уровнях (накопленные дозы γ-облучения <1 Гр, содержание Pu в организме <0,74 кБк) различия с показателями в контрольной группе, как правило, не были достоверными. Зависимое от накопленной дозы и содержания плутония изменение количества Т-х и Т-к свидетельствует о радиационно-индуцированном нарушении иммунного гомеостаза. Среднегрупповое содержание эффекторных лимфоцитов врожденного и адаптивного иммунитета у лиц, подвергнувшихся облучению, не выходило за пределы нормы, что, вероятно, обусловлено увеличением активированных форм Т-л и изменением содержания регуляторных клеток.

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ БЕЛКА Nip7 МЕЛКОВОДНЫХ И ГЛУБОКОВОДНЫХ АРХЕЙ РОДА *PYROCOCCUS* ПОД ВЛИЯНИЕМ ВЫСОКОГО ДАВЛЕНИЯ И ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ МЕТОДАМИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ

Медведев К.Е.[1], Афонников Д.А.[1,2]
ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск[1]
НГУ, г. Новосибирск[2]

Давление – один из важных факторов внешней среды. Большинство живых организмов обитают при атмосферном давлении ~0,1 МПа, а воздействие на них повышенного давления нарушает работу таких систем как репликация, транскрипция, трансляция и синтез белка, транспорт веществ через мембраны, и приводит к гибели клеток. Однако существуют организмы-пьезофилы, которые способны жить при давлениях в тысячу раз больших атмосферного, например, на дне Марианской впадины (~100 МПа). Высокое давление приводит к денатурации белка в результате проникновения молекул воды через поры внутрь гидрофобного ядра белка. Один из перспективных подходов изучения этого процесса является подход молекулярно-динамического моделирования белковых структур при повышенном давлении.

В работе представлены результаты исследования молекулярной динамики влияния высоких давлений и температур на структуру белка Nip7 гипертермофильных архей рода *Pyrococcus*, как глубоководных (*P. abyssi*), так и мелководных (*P. furiosus*) видов. Эти белки вовлечены в биогенез рибосом, и участвуют в процессинге 27S пре-рРНК и в образовании 60S субъединицы рибосом.

Компьютерных моделей трехмерных структур белков исследовались при давлениях от 0,1МПа до 300МПа и температуре 300К и 373К, полученных при моделировании с помощью пакета программ GROMACS в течение 30 наносекунд. Показано, что деформация структуры Nip7 мелководной *P. furiosus* в целом больше, чем глубоководной *P. abyssi*. Кроме того, анализ компьютерных моделей белков Nip7 из *P. abyssi* и *P. furiosus* показал, что с увеличением давления площадь поверхности белка, доступной растворителю уменьшается. Полученные данные свидетельствуют о том, что РНК-связывающий домен *P.abyssi* Nip7 белка более устойчив к воздействию высокого давления. В целом, эти данные согласуются с важностью гидрофобных взаимодействий для формирования белковой глобулы и предположительным механизмом денатурации белковых структур под высоким давлением.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 11-04-01771-а; интеграционными проектами СО РАН № 109, 26, 119; НОЦ НГУ (REC-008), Государственным контрактом П857 и РАН программами А.II.6 и 24.2.

ПРОТЕОМНЫЙ ОТВЕТ ЛЕГКИХ МЫШИ НА ДЕЙСТВИЕ ТАРКОСИЛА

Мошкин М.П, Пельтек С.Е.
ИЦиГ СО РАН, Новосибирск

Органы внешнего дыхания человека или животных рассматриваются в качестве основных «мишеней» для воздушных аэрозолей, содержащих наночастицы (Geiser, Kreyling, 2010; Morimoto et al., 2010). К ним относятся различные порошки, которые, благодаря крупнотоннажному производству, становятся гигиенически значимым фактором профессиональной и бытовой среды. Одним из них является диоксид кремния (SiO_2) Таркосил 25, имеющий средний размер частиц 25 нм.

Ингаляция наночастиц, как правило, вызывает реакцию воспаления, выраженность которой зависит от генетически детерминированных особенностей иммунного реагирования. Вместе с тем, индивидуальная восприимчивостью к действию наночастиц даже не обсуждается. Нами были исследованы две линии мышей свободных от видоспецифических патогенов (specific pathogen free – SPF): с преобладанием Th1 (BALB/c) и Th2 иммунных ответов (C57Bl). Бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ), образцы крови и семенной жидкости брали через 4 ч после интраназальной аппликации (25 мкг на мышь) суспензий с нано и микроразмерными частицами Таркосила 25 – нано Т < 100 нм и микро Т > 100 нм.

Ранние проявления воспалительной реакции были отмечены только при введении наноТ и только у мышей линии BALB/c, характеризующихся преобладанием гуморального (Th2) иммунного ответа. В свою очередь, лейкоцитарная реакция крови на Таркосил 25 имела место только у линии C57BL/6, относящейся к генотипам с преобладанием клеточного (Th1) иммунного ответа. Аппликация наноТ вызывала также рост числа лейкоцитов в семенной жидкости у мышей обеих линий.

Согласно данным литературы (Kasper et al., 2011; Mura et al., 2012), наночастицы вызывают дезинтеграцию мембран легочного эпителия, что должно приводить к выходу внутриклеточных белков в БАЛ. Проведенный нами протеомный анализ показал преобладание обратного эффекта для большинства белков, чьи концентрации в БАЛ изменились в ответ на введение Таркосила 25. Таким образом, уже при первом «столкновении» с наноаэрозолями меняются протеомные профили БАЛ, выраженные в большей степени у мышей, которые характеризуются преобладанием гуморального иммунного ответа.

МНОГООБРАЗИЕ ИНТЕГРАЗА-ГИДРОЛИЗУЮЩИХ IgG И IgM АНТИТЕЛ ИЗ КРОВИ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ

Невинский Г.А.[1], Дмитренок П.С.[2], Бунева В.Н.[1]
[1]*ИХБФМ СО РАН, Новосибирск, Россия*
[2]*ТИБОХ ДВО РАН, Владивосток, Россия*

Показано, что обнаружение каталитической активности антител (АТ), гидролизующих ДНК, РНК, АТР, полисахариды и белки, является самым ранним признаком развития у людей и животных ряда аутоиммунных заболеваний (АИЗ). На ранних стадиях АИЗ репертуар таких абзимов от-носительно небольшой, но резко увеличивается при их развитии. Проте-олитические абзимы обнаружены в крови больных с рядом АИЗ и вирус-ных заболеваний. В отличие от канонических протеаз абзимы с протеоли-тической активностью гидролизуют только один белок, который является антигеном, стимулирующим образование каждого из специфических абзимов. Нами показано, что небольшие фракции IgG и IgM, выделенные из сыворотки крови ВИЧ-инфицированных больных, специфически гидро-лизуют только интегразу ВИЧ (ИН), но не другие белки. Доказана ката-литическая гетерогенность IgG и IgM антител. Аффинная хроматография на сефарозе с иммобилизованной ИН при элюции IgG (или IgM) различ-ными концентрациями NaCl и кислым буфером позволила разделить абзимы на большое число субфракций, характеризующихся различными величинами K_m для ИН и k_{cat}. Нефракционированные IgG и IgM обладали серин-, тиол-, кислотоподобной и металло-зависимой протеолитическими активностями. Последняя активируется ионами различных металлов. В отличие от классических протеаз, обладающих одним pH-оптимумом, исходные нефракционированные IgG и IgM имели несколько pH-оптиму-мов в пределах от 3 до 10. Эти данные свидетельствуют о том, что ИН-гидролизующие поликлональные IgG и IgM крови ВИЧ-инфицированных больных являются коктейлем анти-ИН АТ с различной структурой актив-ных центров, обладающих различными сродством к ИН. С помощью МАЛДИ спектроскопии установлено примерно 40 АТ-зависимых сайтов расщепления ИН АТ, которые локализованы в 7 иммунодоминантных участках ИН. С помощью ТСХ и МАЛДИ показано, что абзимы могут также расщеплять 17–22-мерные олигопептиды, соответствующие иммунодоминантным сайтам ИН, с меньшей скоростью, чем интактные молекулы ИН. И, как следствие, продолжительная инкубация ИН с абзимами ведет к образованию большого числа продуктов расщепления ИН. Предполагается, что такие абзимы замедляют развитие СПИДа и потенциально могут быть использованы в иммунотерапии ВИЧ-инфекции.

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ТЕРАГЕРЦОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ЖИВЫЕ СИСТЕМЫ (НА ПРИМЕРЕ *E. COLI*)

Пельтек С.Е.[1], Мещерякова И.В. [1], Демидова Е.В. [1], Горячковская Т.Н. [1], Банникова С.В. [1], Демидов Е.А. [1], Попик В.М.[2], Малуп Т.К. [1], Розанов А.С. [1], Кулипанов Г.Н. [2], Колчанов Н.А. [1]

[1] *Институт цитологии и генетики СО РАН*

[2] *Институт ядерной физики СО РАН*

Исследование воздействия терагерцового излучения на живые объекты представляет интерес в связи с планированием использования этого диапазона длин волн для разработки систем безопасности. Показана индукция экспрессии Gfp-белка в клетках геносенсоров, обладающих чувствительностью к окислительному стрессу, *E.coli/pKatG-gfp* и *E.coli/pDps-gfp* при воздействии терагерцовым излучением. Это свидетельствует о сильной реакции стрессовых промоторов генов Dps и KatG на терагерцовое излучение.

Методами протеомного анализа с последующей масс-спектрометрией были идентифицированы белки, индуцируемые в клетках *E.coli* в ответ на терагерцовое излучение. Биоинформационный анализ промоторных районов генов, кодирующих эти белки, показал наличие сайтов связывания стрессовых транскрипционных факторов OxyR и MarA. Наличие сайтов связывания транскрипционных факторов OxyR и MarA в промоторах индуцированных терагерцовым излучением генов *E.coli* свидетельствует в пользу развития ответа клеток на терагерцовое излучение по механизмам, сходным со стрессовым ответом.

КОМПЬЮТЕРНЫЙ АНАЛИЗ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО ЭКСПРЕССИРУЮЩИХСЯ ГЕНОВ У КРЫС ГИПЕРТЕНЗИВНОЙ ЛИНИИ НИСАГ

Александрович Ю.В.[1,2], Орлов А.В.[1,2], Пыльник Т.О.[1], Смоленская С.Э.[1], Редина О.Е.[1], Орлов Ю.Л.[1], Маркель А.Л.[1,2]
[1]*ИЦиГ СО РАН, Новосибирк*
[2]*НГУ, Новосибирск*

Изучение молекулярно-генетических механизмов, участвующих в контроле уровня артериального давления в покое и при стрессе является важной проблемой медицинской генетики. Целью настоящей работы являлось определение генов, ассоциированных с регуляцией уровня артериального давления у крыс гипертензивной линии НИСАГ (с наследуемой индуцируемой стрессом артериальной гипертензией). Сравнительный анализ экспрессии 22 тысяч генов на микроматрицах RatRef-12 Expression BeadChip (Illumina, USA) проводили в стволе мозга, гипоталамусе, гипофизе, надпочечнике и в почках крыс гипертензивной линии НИСАГ и крыс нормотензивной линии WAG (Wistar Albino Glaxo). Анализ экспрессии генов на микрочипах проводился на четырех сериях крыс, каждая из которых состояла из 4 животных: НИСАГ в покое, НИСАГ при стрессе, WAG в покое и WAG при стрессе. Полученные результаты позволяют предполагать, что имеющиеся межлинейные различия в функционировании всех проанализированных тканей крыс НИСАГ и WAG в значительной степени обусловлены различиями в работе генов ионного транспорта. Для двух дифференциально экспрессирующихся генов *Sc5dl* (участвует в синтезе холестерина) и *Comt* (катализирует метилирование катехоламинов, приводя к их инактивации) методом 3’RACE были показаны различия в использовании 3’-нетранслируемой области генов. Начата разработка генной сети с участием генов, ассоциированных с повышенным артериальным давлением у крыс НИСАГ, а также генной сети, описывающей функциональные изменения гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы крыс НИСАГ при воздействии эмоционального стресса. С помощью методов сравнительной биоинформатики выполнены оценки эволюционной консервативности дифференциально экспрессирующихся генов в геноме крысы и человека.

Работа поддержана грантами РФФИ 11-04-00210, 11-04-01888, Мин. науки и образования РФ и программами президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» № 6.15 и «Биоразнообразие» № 27.26.

METHOD OF MOLECULAR DYNAMICS FOR PROTEINS IN THE IONIZATION-CONFORMATION PHASE SPACE IN WATER AT CONSTANT pH

Vorobjev Y.N.
Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Division, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia;
**e-mail: YNVOROB@NIBOCH.NSC.RU*

A more realistic methodology of protein molecular dynamics in water solvent at constant pH taking into account the ionization-conformation coupling is proposed and implemented. Molecular dynamics simulation is performed in the potential of mean force of protein molecule in the water-proton bath at equilibrium titration conditions (MD-pH-ET). It is shown that: 1) the algorithm of MD-pH-ET which delivers a highest numerical accuracy of the MD-pH-ET method, is the simulation of protein in their instant most probable physical ionization microstate with additional potential of mean force of equilibrium titration, which depends on a deviation of the most probable ionization microstate from an equilibrium ensemble of ionization microstates for a given protein conformation; 2) new method MD-pH-ET allow one to carry out the optimization of protein structure and the total free energy of a protein in the aqueous solution at constant pH, and calculation the pH-dependent properties. Method MD-pH-ET possesses unique features: 1) it uses precise and computational-effective realization of calculation of ionization equilibrium and electrostatic energy and atomic forces for protein in water solution by the model of continuous dielectric media with Poisson equation solved by the Fast Adaptive Multigrid Boundary Element (FAMBE) method [1]. Coupling of FAMBE method with Generalized Born method by definition of the Poisson "ideal" Born atomic radii allows one to accelerate an accurate calculation of forces and energies in the MD-pH-ET method; 2) it uses the same model of the potential energy surface in the ionization-conformational phase space, both for calculating of the potential energy of the protein and atomic forces and for determining the ionization states; 3) it calculates the total free energy of the protein in the aqueous solution in proton reservoir under the conditions of equilibrium titration. The workability of the new method MD-pH-ET is demonstrated on a set of proteins.

This research has been supported by grant of Russian Fond of Basic Research #09-04-00136 and by projects #09-26 and # 09-119 of the Siberian Brunch of the RAS.

References

1. Y.N. Vorobjev, J.A. Vila, H.A. Scheraga, J. Phys. Chem. 112, 11122-11136 (2008).

РАЗРАБОТКА И ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОГРАММНОГО ПАКЕТА ОЦЕНКИ МЕЖВИДОВОГО СХОДСТВА РЕГУЛЯТОРНЫХ РАЙОНОВ ГЕНОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ АППАРАТНЫХ АРХИТЕКТУР

Бочарников А.В.[1,2], Вишневский О.В.[1,2]
[1] *ИЦиГ СО РАН, Новосибирск*
[2] *НГУ, Новосибирск*

Для оценки статистической значимости регуляторных сигналов выявляемых в функциональных районах генов и решения задач филогенетического анализа необходима оценка усредненного сходства этих районов генов. Популярными методами оценки сходства последовательностей являются методы динамического программирования. По сравнению с эвристическими подходами они характеризуются повышенной точностью оценки гомологии, но обладают более высокой вычислительной сложностью. Рост количества полученных полногеномных последовательностей про- и эукариот существенно повысил требования к производительности методов биоинформационного анализа.

Нами разработан оригинальный метод [1] оценки усредненного межвидового сходства регуляторных последовательностей генов, основанный на использовании методов локального и глобального парного выравнивания. При этом, выравнивание эволюционно консервативных участков производится методом Ватермана-Смита, а их «сшивка» - методом Нидлмана-Вунша, что позволяет выделять такие функционально-нагруженные участки на фоне сильно измененного в ходе эволюции окружения.

Предложенный нами метод реализован в виде общедоступной кросс-платформенной библиотеки на языке C++, позволяющей проводить предобработку нуклеотидных последовательностей, их анализ и визуализацию полученных результатов. Метод оптимизирован с использованием векторных SSE2 инструкций и архитектуры NVIDIA CUDA, что позволило ускорить вычисления более, чем в 15 раз.

Литература:

1. О.В.Вишневский, К.В.Гунбин, А.В.Бочарников, Е.В.Березиков. Анализ вырожденных олигонуклеотидных мотивов в промоторах генов миРНК, экспрессирующихся в различных тканях млекопитающих // Вестник московского университета, 2010, No. 4, pp. 73-75.

ВСТРЕЧАЕМОСТЬ НЕСТРУКТУРИРОВАННЫХ МОТИВОВ И ПОВТОРОВ ИЗ ШЕСТИ АМИНОКИСЛОТ В ЭУКАРИОТИЧЕСКИХ И БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРОТЕОМАХ

Лобанов М.Ю., **Галзитская О.В.**
Институт белка РАН, Пущино

В настоящее время известно восемнадцать наследственных неврологических заболеваний, связанных с мутациями многократной вставки одного аминокислотного остатка в последовательность белка. В связи с этим изучение функционального назначения простых аминокислотных мотивов в последовательности белка представляет важную биологическую задачу. Нами была построена библиотека неструктурированных мотивов, то есть последовательностей, которые, как правило, не имеют фиксированной пространственной структуры. Минимальная длина мотива составила 4 аминокислотных остатков, а максимальная – 22 аминокислотных остатков. Анализ встречаемости данных мотивов в банке белковых структур (PDB) показал, что многие мотивы были введены искусственно в белковые последовательности для лучшего выделения белков. Для поиска важных неструктурированных мотивов была проанализирована их встречаемость в 123 протеомах, каждый их которых содержал более 2.5 миллиона аминокислотных остатков. Оказалось, что чаще всего встречаются простые мотивы, состоящие из повтора одной или двух аминокислотных остатков: Q6, P6, K6 (KKKGKK), G6 (GGKGGG), E6 (EEEDEE), GSSGSS, DEEAEE, EDEDEE, APAPAP, DDEDED, DEEEED и др. Исходя из этого, мы проанализировали встречаемость гомоповторов длиной 6 остатков для 20 аминокислот в 123 протеомах. Оказалось, что протеомы близкие по классификации организмов имеют сходные наборы неструктурированных мотивов и гомоповторов из 6 аминокислот. Данные по встречаемости представлены на сайте: http://bioinfo.protres.ru/fp/. Среднюю встречаемость гомоповторов из шести аминокислот для 97 эукариотических протеомах можно расположить в следующем убывающем порядке: Q6, S6, A6, G6, N6, E6, P6, T6, D6, K6, L6, H6, R6, F6, V6, I6, Y6, C6, M6, W6. Для 26 бактериальных протеомах: A6, G6, P6, а другие встречаются редко. Можно предположить, что такие мотивы ответственны за наличие общих функций у негомологичных, неродственных белков из разных организмов.

В данной работе исследовано, как часто встречаются участки из шести одинаковых аминокислотных остатков, а также неструктурированные мотивы. Исследование проводили на 97 эукариотических и 26 бактериальных протеомах. Оказалось, что многие простые мотивы встречаются чаще чем другие, и тип мотива зависит от протеома.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОСНОВА МАКРОЭВОЛЮЦИОННЫХ ПРЕОБРАЗОВАНИЙ - ИССЛЕДОВАНИЕ РЕЖИМОВ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ЭВОЛЮЦИИ ОРТОЛОГИЧНЫХ БЕЛКОВ ПОЗВОНОЧНЫХ И БЕСПОЗВОНОЧНЫХ

Гунбин К.В.[1], Суслов В.В.[1], Афонников Д.А.[1,2]
[1] ИЦиГ СО РАН, Новосибирск;
[2] НГУ, Новосибирск
e-mail: genkvg@bionet.nsc.ru

С помощью Марковского моделирования эволюции белков проведен анализ режимов эволюции 752 ортологичных групп белков (ОГБ) из 20 таксономических групп позвоночных и 1736 ОГБ из 9 таксономических групп беспозвоночных. Было показано, что внутренние ветви филогенетического дерева позвоночных, содержащие >20% ОГБ со статистически редкими (p<0.01) типами аминокислотных замен (адаптивно эволюционирующих ОГБ или аОГБ), соответствуют основным ароморфозам позвоночных: 1) периодам полногеномных дупликаций у общего предка позвоночных и у лучеперых рыб, 2) выходу на сушу, 3) формированию амниот, 4) формированию млекопитающих и группы плацентарных млекопитающих. Также было показано значительное по сравнению с позвоночными увеличение числа аОГБ (>12%) в группах насекомых и нематод. Абсолютный максимум этого числа характерен для формирования группы нематод. Показано, что формирование групп насекомых и двукрылых насекомых, сопровождаемое увеличением числа аОГБ, может быть связано с формированием тесных экологических связей между насекомыми и покрытосеменными растениями. В настоящей работе также проведен сравнительный анализ функций аОГБ на каждой внутренней ветви филогенетического дерева позвоночных и беспозвоночных, что позволило связать режимы молекулярной эволюции аОГБ с морфологическими преобразованиями в палеонтологической истории таксонов Bilateria.

Поддержка: РФФИ №09-04-01641-а; Интеграционные проекты СО РАН № 113, 119; Программы РАН № 6.8, Б 26.29 и 24.2, Госконтракт Министерства образования РФ № П857.

ОСОБЕННОСТИ РЕКОНСТРУКЦИИ *DE NOVO* БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГЕНОМОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СЕКВЕНИРУЮЩИХ ПЛАТФОРМ 454 FLX GENOME SEQUENCER И ABI SOLiD

Курильщиков А.М., Бреннер Е.В., Фоменко Н.В.
Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новоисбирск

Появление и развитие платформ высокопроизводительного параллельного секвенирования значительно расширило возможности в области изучения механизмов передачи и реализации генетической информации. Среди всего спектра задач, выполняемых с помощью этих платформ, наиболее сложной является задача секвенирования и реконструкции полных геномов организмов *de novo* - без использования референсных геномных последовательностей. В рамках настоящей работы было проведено полногеномное секвенирование и de novo реконструкция геномов двух бактерий - *Borrelia garinii* и *Bacillus cereus*.

Borrelia garinii является одним из основных возбудителей инфекционного клещевого боррелиоза в России. Геном боррелий составляет около 900 тыс. п.н. и характеризуется большим количеством поли-А трактов, в том числе в кодирующих областях. Помимо центральной хромосомы, значительная доля генетической информации этой бактерии находится в плазмидах, количество которых в одной бактериальной клетке в природных условиях может достигать 20. *Bacillus cereus* является почвенной бактерией, геном которой представлен кольцевой молекулой ДНК длиной около 5 млн п.н. Геном *B. cereus* является достаточно сложным для сборки de novo объектом ввиду обилия повторов, в том числе достаточно протяженных, составляющих несколько тыс. п.н.

Протокол секвенирования и последующей реконструкции геномов обеих бактерий включал следующие шаги: секвенирование полногеномных фрагментных библиотек на параллельном секвенаторе 454 FLX с использованием версии реактивов FLX Titanium; сборка контигов de novo программами, использующими алгоритмы overlap-layout-consensus; секвенирование парных библиотек на платформе ABI SOLiD с использованием реактивов версии SOLiD 3+, с длиной вставки около 1000 п.н.; сборка скаффолдов с помощью парных библиотек; закрытие промежутков в скаффолдах путем картирования библиотек на фрагменты генома; коррекция поли-А трактов. Для *B. garinii* удалось полностью реконструировать всю последовательность мастер-хромосомы. Кроме того, были получены полные последовательности двух наиболее крупных плазмид - lp54 и cp26. Полные последовательности оставшихся плазмид не были получены из-за наличия в них протяженных гомологичных районов. Количество исправленных ошибок в поли-А трактах в кодирующих областях превысило 40, что позволяет говорить об обязательности такой коррекции при использовании платформы 454 FLX. При сборке мастер-хромосомы *B. cereus* использование фрагментных библиотек и алгоритма OLC для их сборки позволило достичь параметра сборки N50 - 50,000 п.н. Применение парных библиотек повысило параметр N50 до 187,000 п.н. Покрытие генома превысило 95%.

ПРОГРАММНЫЕ СРЕДСТВА ДЛЯ МНОГОУРОВНЕВОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ ЭВОЛЮЦИИ ПРО- И ЭУКАРИОТ

Лашин С.А., Суслов В.В., Матушкин Ю.Г.
ИЦиГ СО РАН, Новосибирск
НГУ, Новосибирск

Методы математического и компьютерного моделирования широко применяются при теоретическом исследовании биологической эволюции, т.к. многие эволюционные процессы протекают в течение длительного времени и принципиально не могут быть исследованы экспериментально. Сложная иерархическая организация эволюционирующих биологических объектов требует соответствующей методики моделирования.

Нами разработаны методы комплексного компьютерного моделирования популяционно-генетических процессов как гаплоидных, так и диплоидных организмов, и реализованы программные комплексы «Гаплоидный эволюционный конструктор» (ГЭК) и «Диплоидный эволюционный конструктор» (ДЭК). Мы используем принцип декомпозиции, когда каждому уровню биологической организации соответствует свой модельный «слой», содержащий набор спецификаций, которым должна удовлетворять каждая модель данного слоя. Для описания влияния разных уровней организации друг на друга используются специальные модели – «стратегии», описывающие законы изменения слоёв (слои содержат данные, а стратегии манипулируют этими данными).

ГЭК используется для моделирования эволюции прокариот, образующих метаболически связанные сообщества. В ГЭК мы выделяем следующие слои – обобщённый геном, прокариотическая популяция и среда обитания; стратегии – трофическая (описывает поглощение субстратов и размножение), мутационная, горизонтального переноса генетического материала, потери генов. Рассмотрены модели сообществ общей численностью порядка 10^{20} клеток, 10-200 популяций. Генетическое разнообразие популяции доходило до 15000 аллельных комбинаций.

ДЭК используется для пространственно-распределённых популяций диплоидных организмов. На данный момент мы выделяем слои – генотипа, фенотипа, приспособленности, которые являются частями макрослоя организма; слой популяции и слой экосистемы; стратегии – мутационную, рекомбинационную, генотип→фенотип, фенотип→приспособленность, отбора и размножения, миграции. Рассмотрены модели популяций из 200 000 диплоидных организмов. Геном содержал до 10 генов в гаплоидном геноме, при этом потенциально число генов можно будет увеличить до нескольких сотен тысяч, что позволит моделировать сложные природные популяции.

Работа поддержана грантом РФФИ №10-04-01310, программой РАН А.II.6, Б.25.

АНАЛИЗ ВТОРИЧНОЙ СТРУКТУРЫ ВНУТРЕННЕГО ТРАНСКРИБИРУЕМОГО СПЕЙСЕРА (ITS) ДНК РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА CRASSULACEAE - ТОЛСТЯНКОВЫЕ

Никулин В.Ю.[1], Гончаров А.А.[2]
[1] *ДВФУ, г. Владивосток;*
[2] *БПИ ДВО РАН, г. Владивосток*

Семейство Crassulaceae (толстянковые) - семейство цветковых растений преимущественно суккулентного облика, включающее около 1400-1500 видов. Классификация внутри семейства остается спорной. Филогенетический анализ молекулярных маркеров, при участии методов биоинформатики, помогает решить эту проблему.

Внутренний транскрибируемый спейсер - это некодирующий участок ядерной рибосомной ДНК, состоящий из трех компонентов: спейсеров ITS1 и ITS2 и высоко консервативного экзона 5.8S рДНК между ними. Оба спейсера не включены в зрелые рибосомы, так как подвергаются вырезанию во время созревания рибосомной РНК [1].

Данные о вторичной структуре внутреннего транскрибируемого спейсера облегчают выравнивание дивергентных последовательностей, поскольку позволяют определить участки, формирующие гомологичные стебли [2].

Нами было выбрано 54 представителя толстянковых из разных клад для построения вторичной структуры и ее анализа.

Нуклеотидные последовательности выравнивались с помощью программы Sea-View. Свойства последовательностей анализировались в программе PAUP 4.0b10. Построение моделей вторичной структуры - с помощью сервера Mfold Web Server (http://mfold.rna.albany.edu).

В наборе данных длина ITS (ITS1 + 5,8S + ITS2) варьирует от 534 нт до 606 нт. Содержание ГЦ оснований в среднем 55.3%. ITS1 и ITS2 на основании вторичной структуры с минимальной свободной энергией формируют по 4 стебля (спирали).

Результатом моей работы стало построение и анализ модели вторичной структуры внешнего транскрибируемого спейсера 54 представителей семейства толстянковых. Данная модель даст неоценимую информацию для последующих филогенетических анализов.

Литература:

1. Venema J., Tollervey D. Ribosome synthesis in *Saccharomyces cerevisiae* // Annu. Rev. Genet. 1999. Vol. 33. P. 261–311.
2. Goertzen L. R., Cannone J. J., Gutell R. R., Jansen R. K. ITS secondary structure derived from comparative analysis: implications for sequence alignment and phylogeny of the *Asteraceae* // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2003. Vol. 29. № 2. P. 216-234.

АНАЛИЗ ДАННЫХ МАССОВОЙ ИММУНОПРЕЦИПИТАЦИИ ХРОМАТИНА С ПОМОЩЬЮ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ВЕРИФИЦИРОВАННЫХ МЕТОДОВ РАСПОЗНАВАНИЯ САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ ФАКТОРОВ FoxA

Ощепков Д.Ю.[1], Левицкий В.Г.[1], Кулаковский И.В.[2], Ершов Н.И.[1], Васильев Г.В.[1], Меркулова Т.И.[1]
[1] *ИЦиГ СО РАН, Новосибирск*
[2] *ФГУП «ГосНИИгенетика» ГНЦ РФ, Москва*

Идентификация регулирующих транскрипцию элементов в геномах эукариот - одна из важнейших задач молекулярной биологии. Эти элементы представлены сайтами связывания транскрипционных факторов (ССТФ) – короткими (5-15 п.н.) участками ДНК со специфической вырожденной последовательностью нуклеотидов. Метод иммунопреципитации хроматина в сочетании с технологией массового параллельного секвенирования (ChIP-seq) в настоящее время является самым мощным инструментом выявления таких элементов. Однако этот метод не отличает непосредственного связывания ТФ с опознаваемыми ими участками ДНК от взаимодействия его с другими ДНК-связанными белками и не дает информации о месте расположения ССТФ внутри 200-500 п.н. фрагментов ДНК. Ответить на эти вопросы возможно с помощью биоинформационных методов распознавания ССТФ. Используемые для интерпретации данных ChIP-seq биоинформационные методы делятся на две принципиально различающиеся группы: (1) методы, основанные на использовании обучающих выборок ССТФ и (2) методы поиска наиболее представленных мотивов в пиках ChIP-seq. Однако, применяемые методы требуют экспериментальной верификации и определения параметров их работы для выявления реально существующих сайтов. На примере данных ChIP-seq по связыванию ТФ FoxA2 с хроматином клеток печени мыши [1] нами проведен поиск сайтов связывания этого белка с помощью методов из этих двух групп oPWM [2] и ChIPMunk [3]. Экспериментальную проверку обоих методов проводили методом задержки в геле меченых олигонуклеотидных проб, соответствующих предсказанным сайтам, с использованием GST-слитого белка, содержащего ДНК-связывающий домен FoxA2. В результате установлены диапазоны надежной работы методов. Установлено также, что биоинформационные методы, основанные на разных принципах, дополняют друг друга. Работа поддержана грантом РФФИ № 09-04-00562-а, грантом Министерства образования и науки РФ (г/к 02.740.11.0705) и программой РАН “Молекулярная и клеточная биология” №А.II.6.

Литература:

1. Wederell E.D. et al. Nucleic Acids Res. 2008 36: 4549–4564.
2. Левицкий В.Г. и др. Доклады РАН 2011 436: 417–421.
3. Kulakovskiy I.V. et al. Bioinformatics 2011 26: 2622-2623.

МЕТОД СБОРКИ ГЕНОМНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ НА ОСНОВЕ СОВМЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ГРАФОВ ДЕ БРЮИНА И ГРАФОВ ПЕРЕКРЫТИЙ

Александров А.В., Казаков С.В., Мельников С.В., **Сергушичев А.А.**, Царев Ф.Н.
НИУ ИТМО, Санкт-Петербург

Многие современные задачи биологии и медицины требуют знания геномов живых организмов. Существующие устройства для чтения геномов (секвенаторы) не позволяют считать разом всю молекулу ДНК. Вместо этого они позволяют читать фрагменты генома небольшой длины.

Задачей сборки генома является восстановление как можно большей части геномной последовательности по данным, полученным в результате секвенирования. Сложность задачи сборки геномной последовательности обусловлена следующими факторами: большой объем входных данных, который составляет порядка десятков и сотен гигабайт; сложность структуры генома – наличие в нем повторов и полиморфизмов; наличие ошибок в исходных данных – чтениях, полученных с устройств-секвенаторов.

Существующие в настоящее время методы сборки генома обладают двумя основными недостатками:

- высокие требования к ресурсам – для работы существующих методов требуется объем оперативной памяти в сотни гигабайт;
- отсутствие методов внутреннего контроля качества процесса сборки контигов – сборка контигов практически во всех существующих методах проводится в один этап, в процессе которого качество контроллировать нельзя.

Для исправления указанных недостатков в лаборатории «Алгоритмы сборки геномных последовательностей» НИУ ИТМО был разработан метод сборки генома, лишенный указанных недостатков. В этом методе сборка контигов разбита на два подэтапа. При этом на первом подэтапе в качестве базовой структуры данных для представления геномных данных выступает граф де Брюина, а на втором – граф перекрытий между фрагментами геномной последовательности.

Апробация разработанных алгоритмов была произведена в рамках участия в проекте de novo Genome Assembly Assessment Project (dnGASP, http://cnag.bsc.es), организованном Национальным центром геномного анализа (Барселона, Испания). В рамках этого проекта необходимо было осуществить сборку искусственного генома размером 1.8 млрд нуклеотидов. С помощью разработанного программного комплекса эта задача была решена с меньшими затратами оперативной памяти, чем у других участников проекта.

АВТОМАТИЧЕСКАЯ РЕКОНСТРУКЦИЯ АССОЦИАТИВНЫХ ГЕННЫХ СЕТЕЙ НА ПРИМЕРЕ АНАЛИЗА ПРОТЕОМА МОЧИ

Тийс Е.С.[2], Деменков П.С.[2], Доброхотов И.В.[1], Валеева О.А.[1], Пастушкова Л.Х.[1], Николаев Е.Н.[3], Ларина И.М.[1], Колчанов Н.А.[2], Иванисенко В.А.[2]
[1]ИМБП РАН
[2]ИЦиГ СО РАН
3ИБХФ РАН

При автоматической реконструкции генных сетей, описывающих биологические процессы, существует проблема определения границ подграфа будущей сети в графе глобальной генной сети организма [1]. Такие подграфы могут быть ограничены координированно функционирующими группами генов, выявляемыми анализом различных геномных и протеомных экспериментов [2].

Целью работы являлся компьютерный анализ протеома мочи здоровых лиц, во время их жизнедеятельности в контролируемых условиях 105-суточной изоляции, при воздействии различных режимов солепотребления, направленный на выявление координированно функционирующих групп генов. Для решения этой задачи использовался подход к реконструкции ассоциативных генных сетей на основе автоматического анализа текстов публикаций и извлечения информации из баз данных с помощью системы ANDCell-ANDVisio [3].

Данными для компьютерного анализа был набор белков (более 900 белков), выявленных с использованием протеомного анализа в моче добровольцев, для которых наблюдалась динамика появления и исчезновения в ходе эксперимента. Для классификации белков по сходству динамики их появления и исчезновения был проведен иерархический кластерный анализ. Для выявленных кластеров были реконструированы ассоциативные интерактомные сети, характеризующие функциональные отношения генов.

Работа частично поддержана Госконтрактом с Министерством образования и науки РФ 14.740.11.0001, EU-FP7 PATHOSYS №260429.

Литература:

1. Ulitsky I., Karp R. M., Shamir R. Detecting disease-specific dysregulated pathways via analysis of clinical expression profiles // Conference: Research in Computational Molecular Biology - RECOMB, pp. 347-359, 2008.
2. Rapaport F., Zinovyev A., Dutreix M., Barillot E., Vert JP. Classification of microarray data using gene networks // BMC Bioinformatics. 2007 Feb 1;8:35.
3. Деменков П.С., Аман Е.Э., Иванисенко В.А. Associative Network Discovery (AND) – компьютерная система для автоматической реконструкции сетей ассоциативных знаний о молекулярно-генетических взаимодействиях. Вычислительные технологии. 2008, т.1, №1, С.47-50.

Научное издание

Тезисы II Международной
научно-практической конференции

ПОСТГЕНОМНЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА В БИОЛОГИИ, ЛАБОРАТОРНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЕ: ГЕНОМИКА, ПРОТЕОМИКА, БИОИНФОРМАТИКА

(*Дополнение*)

Тезисы конференции печатаются
в авторской редакции

Подготовлено к печати
в редакционно-издательском отделе
Института цитологии и генетики СО РАН
630090, Новосибирск, пр. акад. М.А. Лаврентьева, 10

Выпускающий редактор *А.А. Ончукова*
Дизайн и компьютерная верстка *А.В. Харкевич*

Подписано к печати 9. 11. 2011 г.
Формат бумаги 70 × 108 1/16. Печ. л. 4,2. Уч.-изд. л. 3,4
Тираж 267. Заказ 68.

Отпечатано на полиграфической базе Института цитологии и генетики СО РАН
630090, Новосибирск, пр. акад. Лаврентьева 10