

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 Ина 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

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)

Е-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

ХИМЭКСПЕРТ



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

НЕДАВНО ДУПЛИЦИРОВАННЫЕ ГЕНЫ ЧЕЛОВЕКА: ОСНОВЫ ЭВОЛЮЦИИ <i>Панчин А.Ю., Шустрова Е.Н., Артамонова И.И.</i>	197
ПОСТГЕНОМНЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА В ПРАКТИКЕ ПОЛЕВОЙ ЗООЛОГИИ (КОНСПЕКТ МЕТОДИЧЕСКОГО ПОСОБИЯ) <i>Булатова Н.Ш., Банникова А.А., Павлова С.В., Наджафова Р.С., Быстракова Н.В.</i>	198
ЦЕЙТТРАФЕРНАЯ МИКРОКИНОСЪЕМКА И ФАЗОВО-КОНТРАСТНАЯ МИКРОСКОПИЯ БИОЛОГИИ КЛЕТОК НА РУБЕЖЕ ВЕКОВ <i>Ганин А.Ф., Мосолов А.Н.</i>	199
ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЕ <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА НЕКОТОРЫХ ТЕРРИТОРИЯХ СТРАН СНГ <i>Дымова М.А., Храпов Е.А., Киниш В.Н., Чередниченко А.Г., Ляшенко А.А., Филипенко М.Л.</i>	200
АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В АНОМАЛЬНЫХ КОНЕЧНОСТЯХ ХИМЕРНЫХ ЭМБРИОНОВ, ПОЛУЧЕННЫХ С GFP-МАРКИРОВАННОЙ ЛИНИЕЙ ЭСК <i>Кизилова Е.А., Белокрылова Д.О., Голубица А.Н., Железова А.И.</i>	201
ИССЛЕДОВАНИЕ мРНК В ЯДРЕ МЕТОДАМИ ПРОСВЕЧИВАЮЩЕЙ, СКАНИРУЮЩЕЙ И ИММУНО-ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ <i>Киселева Е.В.</i>	202
ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ЦИТОХРОМА P450 2C9, ОТВЕТСТВЕННОГО ЗА МЕТАБОЛИЗМ ВАРФАРИНА, В ПОПУЛЯЦИЯХ ЛЕСНЫХ И ТУНДРОВЫХ НЕНЦЕВ <i>Корчагина Р.П., Осипова Л.П., Воронина Е.Н., Филипенко М.Л.</i>	203
ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ЛЕКАРСТВ И ГЕПАТОТОКСИЧНОСТЬ У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ <i>Кудряшов А.В., Вавилин В.А., Макарова С.И., Никишина М.В., Сафронова О.Г., Колпакова Т.А., Краснов В.А., Ляхович В.В.</i>	204
КОНСТРУИРОВАНИЕ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ ХОЛОДОАКТИВНЫХ ЛИПАЗ НА ОСНОВАНИИ ГЕНОМНОГО И ПРОТЕОМНОГО АНАЛИЗА <i>Psychrobacter cryohalolentis</i> K5 ^T <i>Новотоцкая-Власова К.А., Петровская Л.Е., Крюкова Е.А., Гиличинский Д.А.</i>	205
SYSTEM CHANGES OF EXPRESSION OF BASAL METABOLISM GENES IN CANCER CELLS <i>Oparina N., Mashkova T.</i>	206
ИДЕНТИФИКАЦИЯ ОРТОЛОГОВ РЕЦЕПТОРА ТИРЕОИДНОГО ГОРМОНА У ПЛОСКИХ ЧЕРВЕЙ <i>Opisthorchis felineus</i> . <i>Воронцова Е.В., Пахарукова М.Ю., Ершов Н.И., Катохин А.В., Меркулова Т.И., Мордвинов В.А.</i>	207
ЦИТОХРОМ P450 У ПАРАЗИТИЧЕСКИХ ПЛОСКИХ ЧЕРВЕЙ НА ПРИМЕРЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ ОПИСТОРХОЗА <i>Opisthorchis felineus</i> <i>Пахарукова М.Ю., Ершов Н.И., Вавилин В.А., Воронцова Е.В., Катохин А.В., Меркулова Т.И., Мордвинов В.А.</i>	208
RECOMBINATION-ASSOCIATED GENERATION OF MICROSATELLITES IN MAMMALIAN GENOMES <i>Fridman M., Oparina N., Kulakovskiy I., Makeev V.</i>	209
ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ - АЛЬФА У БОЛЬНЫХ АЛКОГОЛИЗМОМ <i>Ефременко Е.С., Поморгайло Е.Г., Высокогорский В.Е.</i>	210

Протеомика

МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ МАЛЫХ МОЛЕКУЛ НА БЕЛОК-ЛИГАНДНОЕ
ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ

*Колотьева Н.А., Шахнович Е.А., Нефедова Н.С., Рыскина Е.А.,
Епифанова А.А., Колесова К.И., Долгова О.А.*.....211

ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ BDNF,
НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА С ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ АНТИДЕПРЕССИВНОЙ
АКТИВНОСТЬЮ, НА МОДЕЛИ ГЕНЕТИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННОГО
ДЕПРЕССИВНОПОДОБНОГО СОСТОЯНИЯ У МЫШЕЙ

*Тихонова М.А., Базовкина Д.В., Кондаурова Е.М., Науменко В.С.,
Куликов А.В., Попова Н.К.*.....212

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА РЕКОМБИНАНТНЫХ ВАРИАНТОВ БЕЛКА VP24
ВИРУСА ЭБОЛА

Шелемба А.А., Гуляева Л.Ф......213

Биоинформатика

UGENE AND EXPERT DISCOVERY: INTEGRATED SYSTEM FOR ANALYSIS OF GENES'
REGULATORY REGIONS

Vaskin Y.Y., Vityaev E.E., Khomicheva I.V......214

НАРУШЕНИЕ СТРУКТУРЫ ТЕЛОМЕРНОГО КВАДРУПЛЕКСА НОВЫМ
ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМ ДНК-ЛИГАНДОМ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИЗМЕРЕНИЯ
И МОДЕЛИРОВАНИЕ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ

*Цветков В.Б., Калюжный Д.Н., Щекотихин А.Е., Ильинский Н.С., Веселовский А.В.,
Штиль А.А., Борисова О.Ф., Щелкина А.К.*.....215

НЕДАВНО ДУПЛИЦИРОВАННЫЕ ГЕНЫ ЧЕЛОВЕКА: ОСНОВЫ ЭВОЛЮЦИИ

Панчин А.Ю.^{2,3}, Шустрова Е.Н.³, Артамонова И.И.^{1,2,3}

¹ ИОГен РАН, Москва

² ИППИ РАН, Москва

³ МГУ, Москва

Дупликация генов является одним из основных источников функционального разнообразия. Целью данного исследования был анализ закономерностей эволюции недавно дуплицированных генов человека. Для исследования мы выбрали семейства паралогичных генов человека, похожих не только на белковом уровне, но сохранивших гомологию и в последовательности интронов.

Мы разработали специальный метод оценки индивидуальных эволюционных параметров генов-паралогов. С использованием этого метода было показано, что отрицательное давление отбора, действующее на дуплицированные гены, ослабевает в первый период после дупликации, а затем возрастает.

Примерно для одной пятой всех пар генов, появившихся в результате недавней дупликации, копии накапливают несинонимические замены со статистически значимо разной скоростью. Кроме того, в асимметрично эволюционирующих парах паралогических генов одна из копий значимо быстрее накапливает несинонимичные замены, влияющие на функцию кодируемого белка. Такая модель эволюции поддерживает теорию неофункционализации, согласно которой одна из копий дуплицированного гена сохраняет изначальную функцию, а вторая быстро меняется и приобретает принципиально новую функцию.

Для небольшой доли недавно дуплицированных генов по геномному окружению в близких видах (здесь – в геномах человека и мыши) можно различить старые и новые копии. Скорости накопления несинонимических мутаций и сила давления отбора значимо ниже для старых копий генов, чем для новых.

При сравнении моделей альтернативного сплайсинга в семействах паралогических генов человека показано, что новые сайты сплайсинга чаще рождаются в генах-паралогах, чем умирают. Рождение и исчезновение альтернативных сайтов сплайсинга преобладает над рождением и исчезновением конститутивных сайтов. Процесс превращения альтернативных сайтов сплайсинга в конститутивные преобладает над обратным процессом. Этот процесс ассоциирован с увеличением веса сайтов.

ПОСТГЕНОМНЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА В ПРАКТИКЕ ПОЛЕВОЙ ЗООЛОГИИ (КОНСПЕКТ МЕТОДИЧЕСКОГО ПОСОБИЯ)

Булатова Н.Ш.¹, Банникова А.А.², Павлова С.В.¹, Наджафова Р.С.¹,
Быстракова Н.В.³

¹ ИПЭЭ им. Северцова РАН, Москва

² МГУ им. Ломоносова, Москва

³ ПГПУ им. Белинского, Пенза

Работы по изучению и охране биологического разнообразия в мире уже не мыслятся без ДНК. Общеизвестна глобальная программа ДНК-штрихкодов. Все большее распространение получают исследования по молекулярной филогеографии самых разных видов. Анализ ДНК требует не только специальной научной базы и лабораторной школы, но и определенных общих навыков сбора материала, которые, в свою очередь, полезно было бы распространить для обновления методик исследовательских и образовательных полевых работ с учетом современных требований геномной эры. При этом общая схема взятия проб применима к любым живым объектам, без ограничений. Необходимо только выбрать удобные для извлечения ДНК органы или ткани.

Как правило, филогеографический анализ подразумевает сборы

живого материала и получение *свежих* образцов тканей от экземпляров из *географически различных* мест. Наш опыт сбора проб приобретен при изучении различных видов. Моделью для комплексного исследования распространения хромосомных и геномных маркеров на ареале вида млекопитающих стала обыкновенная бурозубка, *Sorex araneus* L., объект международного научного сотрудничества, организованного Международным комитетом по цитогенетике *S. araneus* – ISACC [<http://www.zin.ru/journals/compcyt/contents.asp?vol=3&n=1>].

Включение протоколов по сбору молекулярных проб в общий свод правил необходимо для обновления полевой зоологической работы, имея в виду не только школу полевых наблюдений, но и задачи создания и пополнения зоологических коллекций с учетом современных требований в свете геномики, а также образовательный аспект. Не стоит говорить, как важно приобщить студентов с первых шагов к геномной практике. Эту тенденцию, отмеченную в нашей статье и методическом пособии «Практика полевой геномики. Памятка по сбору проб. КМК: Москва. 2009. 24 с.», поддерживает новое американское издание [Mammalogy Techniques Manual. 2nd edition. 2011].

ЦЕЙТТРАФЕРНАЯ МИКРОКИНОСЪЁМКА И ФАЗОВО-КОНТРАСТНАЯ МИКРОСКОПИЯ БИОЛОГИИ КЛЕТОК НА РУБЕЖЕ ВЕКОВ

Ганин А.Ф., Мосолов А.Н.

ГБОУ ВПО НГМУ Минздрава России, Новосибирск

Стремительное развитие современной биологии и медицины имеет большую историю научных исследований изучения «живой клетки». Только видя в микроскопическом поле живую клетку удивляешься её таинствам, жизни и строению и невольно хочется проследить в динамике судьбу и поведение такой клетки. История развития цитологии, в том числе в России, многому обязана проявлением интереса к исследованиям непосредственно живых, в том числе, клеток в тканевых культурах. В 60-е годы прошлого столетия на стыке наук цитологии, вирусологии с применением фазово-контрастной микроскопии и цейттраферной микрокиносъёмки были изучены особенности взаимодействия вируса и клетки [1], что имело большое для отечественной цитопатологии и вирусологии. Только благодаря применению методов прижизненного изучения и большого кинематографического анализа слияния клеток, исследования патологии митоза, оставлены суждения о роли амитоза, долгое время, считавшиеся догмой относительно механизмов образования двуядерных и многоядерных клеток и получены новые данные, имеющие большое значение для развития наших представлений о механизмах полиплоидии [2,3,4]. Нам представляется, что в качестве инновационных подходов в изучении межклеточных взаимодействий, структуры интерфазного ядра было бы перспективным использование современных компьютерных программ и видео наблюдений, в сочетании не только с фазово-контрастной, но и люминесцентной и электронной микроскопией для одной и той же клетки. Нами были предприняты некоторые исследования в этом направлении. Хочется надеяться, что комплексные подходы исследований в биотехнологии найдут своё дальнейшее развитие в работах молодых учёных и откроют новые горизонты наших знаний о «клетке» и в целом организмов в биологии и медицине двадцать первого века.

Литература:

1. Ершов Ф.И. Симпластообразующая активность вирусов. Ж. Вопросы вирусологии. 1965,1,3-7
2. Ганин А.Ф., Мосолов А.Н. Митоз и образование многоядерных клеток в культурах тканей. **Цитология**, 1969,2,8,1061-1063.
3. Oftebro R, Wolf J, Mitosis of bi-and multinucleate Hela cells, Exp. Cell Res., 1967, 48, 1, 39-52.
4. Бродский В.Я., Урываева И.В., Клеточная полиплоидия. Пролiferация и дифференцировка, М. «Наука», 1981, 252

ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЕ *Mycobacterium tuberculosis*, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА НЕКОТОРЫХ ТЕРРИТОРИЯХ СТРАН СНГ

Дымова М.А.¹, Храпов Е.А.¹, Киншт В.Н.², Чередниченко А.Г.², Ляшенко А.А.³, Филипенко М.Л.¹

¹ИХБФМ СО РАН, г. Новосибирск, Россия

²ФГБУ «ННИТ» Минздравоохранения РФ, г. Новосибирск, Россия

³Харьковская медицинская академия последипломного образования, г. Харьков, Украина

Туберкулез по-прежнему остается одной из актуальных проблем здравоохранения во всем мире. По данным ВОЗ, ежегодно в мире туберкулезом заболевают 10 млн. человек, а умирают около 3 млн. (Mathema *et al.*, 2006). Особенностью эпидемиологии туберкулеза в РФ является сочетание его с ВИЧ-инфекцией, а также значительная распространенность лекарственной устойчивости к одному или нескольким противотуберкулезным препаратам. Помимо этого, все больше уделяется внимания изолятам семейства Beijing *M. tuberculosis* в связи с их эпидемиологической значимостью. Некоторые изоляты данного семейства имеют повышенную бактериальную относительную приспособленность, вирулентность, цитотоксичность и трансмиссивность (Parwati *et al.*, 2010). В сложившейся ситуации для эффективного осуществления эпидемического анализа необходимы данные по идентификации и дифференциации клинических изолятов *M. tuberculosis*.

Целью данной работы является изучение генетического разнообразия и профиля устойчивости к противотуберкулезным препаратам изолятов *M. tuberculosis*, выделенных от больных, проживающих на территории стран СНГ, и неблагоприятных в отношении туберкулеза областей России, с применением методов молекулярной эпидемиологии.

Для этого генетический профиль 354 изолятов *M. tuberculosis* был определен с помощью VNTR –типирования по 15 полиморфным локусам и IS6110- RFLP-типирования. Мутации, ассоциированные с устойчивостью к 2 противотуберкулезным препаратам, выявлены с использованием ПЦР-ПДРФ анализа и секвенирования. В результате, нами были выявлены региональные особенности встречаемости различных генотипов *M. tuberculosis*, циркулирующих на территории бывшего СНГ (Дымова *et al.*, ; Дымова *et al.*). Семейство Beijing обладало наибольшей частотой встречаемости в суммарной выборке (43%). Среди устойчивых в изониазиду и рифампицину изолятов наиболее часто встречающимися мутациями были Ser315Thr в гене *katG* и Ser531Leu в гене *rpoB*, соответственно. Было показано, что нахождение ассоциации между принадлежностью к определенному генотипу и наличием мутации или множественной лекарственной устойчивости зависит от анализируемого региона.

Имеется успешный опыт внедрения полученных разработок во фтизиатрическую практику НИИ туберкулеза Минздравоохранения России г. Новосибирска. В дальнейшем выявление основных филогенетических семейств микобактерий туберкулеза и описание их свойств, особенно лекарственной резистентности, будет способствовать выбору более эффективных превентивных мер в борьбе с туберкулезом в условиях сложной эпидемической ситуации на территории РФ.

Литература:

1. Dymova, M. A., Kinsht, V. N., Cherednichenko, A. G., Khrapov, E. A., Svistelnik, A. V. & Filipenko, M. L. Highest prevalence of the Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype isolates in patients newly diagnosed for tuberculosis in the Novosibirsk oblast, Russian Federation. *Journal of medical microbiology*.
2. Dymova, M. A., Liaschenko, O. A., Poteiko, P. I., Krutko, V. S., Khrapov, E. A. & Filipenko, M. L. Genetic variation of Mycobacterium tuberculosis circulating in Kharkiv Oblast, Ukraine. *BMC infectious diseases* 11, 77.
3. Mathema, B., Kurepina, N. E., Bifani, P. J. & Kreiswirth, B. N. (2006). Molecular epidemiology of tuberculosis: current insights. *Clin Microbiol Rev* 19, 658-685.
4. Parwati, I., van Crevel, R. & van Soolingen, D. (2010). Possible underlying mechanisms for successful emergence of the Mycobacterium tuberculosis Beijing genotype strains. *Lancet Infect Dis* 10, 103-111.

АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В АНОМАЛЬНЫХ КОНЕЧНОСТЯХ ХИМЕРНЫХ ЭМБРИОНОВ, ПОЛУЧЕННЫХ С GFP-МАРКИРОВАННОЙ ЛИНИЕЙ ЭСК

Кизилова Е.А., Белокрылова Д.О., Голубица А.Н., Железова А.И.
ИЦиГ СО РАН, Новосибирск

По мере развития технологии стволовых клеток (СК) всё более актуальным становится исследование закономерностей и особенностей поведения потомков СК в условиях *in vivo*. Ранее нами было показано, что в эмбриональный и ранний плодный период развития (E14-E17) у **экспериментальных первичных химер мыши возникают** многочисленные аномалии дистальных отделов передних и задних конечностей. Целью данной работы был анализ транскриптома в конечностях химер (E17), полученных при инъекции околотетраплоидных GFP-маркированных эмбриональных СК мыши 129/Ola в бластоцисты C57BL. Метод массового исследования транскриптов на ДНК-биочипах позволил оценить профили генной экспрессии в нормальных и аномальных задних конечностях химер. В опытную группу вошли химеры с сильной полидактилией и синдактилией, а также химеры, у которых на той же стадии развития (E17) при условии заселения интересующей области потомками ЭСК выраженный тератогенный эффект не наблюдался. Контролем служили конечности интактных эмбрионов C57BL на той же стадии развития. Анализ проведён на микроматрице MouseRef-8 (Illumina) силами ЗАО «Геноаналитика» (Москва, РФ). При $p < 0.001$ у **всех химер показано значительное** изменение уровня экспрессии 240-550 генов. В среднем, из них только около 30 генов показывают подавление экспрессии (до 0,1). Гены Hbb-у и Rpl29 претерпевают сильную супрессию (более 0,01). Уровень экспрессии остальных выделенных генов увеличен от 1,2 до 80 раз. Для всех химер показана сильная активация экспрессии (более 100 раз) генов Krt23, Calm4 и фрагмента 1110014K05Rik. Увеличена экспрессия генов, участвующих в гистогенезе мышц, кожи, хряща, кости, соединительной и нервной тканей (например, кератинов Krt10, Krt14, Krt17, Krt23, Krt33a, Krt42, Krt7, Krt77, Krt84). Подтверждена показанная ранее [1] активация экспрессии гена Gjb2, что связывают с увеличением плоидности ранних эмбрионов мыши. Полученные результаты позволят в дальнейшем выявить основные гены и контролируемые ими метаболические пути, задействованные в тератогенезе конечностей у химер.

Работа поддержана РФФИ (проект 09-04-01369-а)

Литература:

1. Kawaguchi J, Kano K, Naito K. Expression profiling of tetraploid mouse embryos in the developmental stages using a cDNA microarray analysis / J Reprod Dev. 2009 Dec;55(6):670-5

ИССЛЕДОВАНИЕ мРНК В ЯДРЕ МЕТОДАМИ ПРОСВЕЧИВАЮЩЕЙ, СКАНИРУЮЩЕЙ И ИММУНО-ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ

Киселева Е.В.

ИЦиГ СО РАН, Новосибирск

С использованием высокоразрешающей электронной микроскопии изучена структурная организация мРНК на разных этапах экспрессии генов и ее связь с ядерными компонентами в клетках слюнных желез *Chironomus tummu* и растущих ооцитах *Xenopus laevis*. Установлено, что в процессе транскрипции гена КБ2, расположенного в 4-ой хромосоме хирономуса, 7нм фибрилла мРНК упаковывается с участием 36кДа белка в 25нм фибриллу и затем с участием 45кДа белка в 50нм частицу. Сплайсосомные белки выявляются в проксимальных отделах транскрипционной единицы, в области локализации 3-х интронов, а также в составе зрелых РНП частиц, что, связано с пост-транскрипционным сплайсингом интрона расположенного на 5' конце РНК. Обнаружено стабильное взаимодействие хроматина с тельцами Кахала, активно метящимися антителами к РНК-связывающим и сплайсосомным белкам, а также коилину.

В процессе транспорта от места транскрипции к ядерной поре оба белка 36 и 45кДа сохраняют связь с мРНК, которая может перемещаться во внутриядерном пространстве как диффузно, так и с участием спирально закрученных актин-содержащих филаментов внутриядерного матрикса, разрушающихся под действием латрункулина. Впервые в 3-х мерном изображении продемонстрированы последовательные этапы экспорта мРНП частицы через различные компартменты ядерной поры в цитоплазму, а также изменение при этом конформации ядерной поры. В процессе экспорта 50нм РНП частицы в ядрах слюнных желез хирономуса она декомпактизуется и теряет белок 45кДа, а белок 36кДа остается связанным с РНК и обнаруживается в составе гигантских трансляционных комплексов содержащих до 200 рибосом. Дополнительно установлено, что внутриядерный актин и миозин I участвуют в биогенезе пре-рибосомных субъединиц и их внутриядерном транспорте от места транскрипции до ядерных пор [1]. Исследования выполнялись совместно с Институтом Раковых исследований, Манчестер, Англия и Каролинским Институтом, Стокгольм, Швеция.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российских грантов РФФИ, МКБ РАН и Английского фонда Wellcome Trust.

Литература:

1. Obrdlik et al. FASEB J., 2010, 24, 146-57.

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ЦИТОХРОМА P450 2C9, ОТВЕТСТВЕННОГО ЗА МЕТАБОЛИЗМ ВАРФАРИНА, В ПОПУЛЯЦИЯХ ЛЕСНЫХ И ТУНДРОВЫХ НЕНЦЕВ

Корчагина Р.П.¹, Осипова Л.П.¹, Воронина Е.Н.², Филипенко М.Л.²

¹ ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск

² ИХБФМ СО РАН, г. Новосибирск

Варфарин – антикоагулянт непрямого действия, применяющийся для лечения сердечно-сосудистых заболеваний. Он метаболизируется в основном цитохромом P450 2C9 (CYP2C9). Мутантные варианты CYP2C9*2 и CYP2C9*3 гена CYP2C9 ассоциированы со снижением активности фермента и скорости метаболизма фармпрепарата. Носители CYP2C9*2 и CYP2C9*3, так называемые «медленные» метаболизаторы, имеют повышенную чувствительность к варфарину, которая может проявляться в виде нежелательных побочных реакций (геморрагические осложнения). Выявление CYP2C9 генотипов на популяционном и индивидуальном уровнях важно для достижения эффективной и безопасной терапии антикоагулянтам.

Цель исследования – определение частот генотипов CYP2C9*2 и CYP2C9*3 гена CYP2C9 в двух популяциях самодийских этносов.

В исследование были включены практически здоровые представители лесных (N=303) и тундровых (N=310) ненцев. Генотипирование однонуклеотидных замен в гене CYP2C9 проводилось методом ПЦР в режиме реального времени с использованием конкурирующих TaqMan-зондов.

Носителями нормального генотипа CYP2C9*2 CC оказались 86% лесных ненцев и 94% тундровых ненцев; мутантный гетерозиготный вариант CT выявлен у 14% лесных и 6% тундровых ненцев. Количество лиц с нормальным генотипом CYP2C9*3 AA среди лесных и тундровых ненцев составило 98% и 92%, соответственно. Гетерозиготный вариант AC выявлен у 2% лесных ненцев и 7% тундровых ненцев. Мутантный гомозиготный вариант CC выявлен всего лишь у одного тундрового ненца. Частоты мутантных аллелей CYP2C9*2 T и CYP2C9*3 C среди лесных и тундровых ненцев распределились следующим образом: 7% против 3% ($p=0,014$) и 1% против 4% ($p=0,004$), соответственно.

Таким образом, установлены достоверные различия в частотах полиморфных вариантов CYP2C9*2 и CYP2C9*3 между родственными по языку популяциями ненцев, возможно, связанные с разным уровнем инбридинга. Выявленная значимая доля «медленных» метаболизаторов среди лесных и тундровых ненцев (16% и 14%, соответственно) свидетельствует о необходимости определения носительства аллелей CYP2C9*2 и CYP2C9*3 у лиц, которым потребуется терапия варфарином.

ИНДИВИДУАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ЛЕКАРСТВ И ГЕПАТОТОКСИЧНОСТЬ У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ

Кудряшов А.В.¹, Вавилин В.А.¹, Макарова С.И.¹, Никишина М.В.¹, Сафронова О.Г.¹, Колпакова Т.А.², Краснов В.А.², Ляхович В.В.¹

¹ НИИМББ СО РАМН, г. Новосибирск

² ФГУ Новосибирский НИИ туберкулеза, г. Новосибирск

Образование реактивных метаболитов в результате ферментативной биотрансформации противотуберкулезных препаратов (ПТП) и, как следствие, развитие окислительного стресса является одним из важных механизмов развития гепатотоксических реакций (ГТР) при лечении больных туберкулезом. Частота развития ГТР достигает 47%, смертельных исходов – 0,1% [1]. Поэтому поиск полиморфных вариантов генов ферментов биотрансформации ксенобиотиков и антиоксидантной защиты актуален в целях повышения безопасности лекарственной терапии туберкулеза.

Нами обследованы больные туберкулезом легких, принимавшие ПТП в интермиттирующем или ежедневном режиме. О развитии ГТР судили по повышению сывороточных уровней аланинаминотрансферазы и аспаргатаминотрансферазы. Генотипирование *NAT2*, *CYP2E1*, *GSTA2*, *GSTP1* осуществляли методами ПЦР-ПДРФ и аллель-специфичной ПЦР, а *GSTM1* и *GSTT1* – методом ПЦР с детекцией в реальном времени.

При анализе индивидуальных генотипов было выявлено, что генотипы медленного ацетилирования *NAT2*, 63CC 5 экзона *GSTA2*, *GSTP1**A/B и *B/B, а также гомозиготная делеция *GSTT1* связаны с развитием ГТР при интермиттирующем приеме ПТП. При ежедневном приеме более предрасположены к развитию ГТР пациенты с генотипами медленного ацетилирования *NAT2*, *CYP2E1**7632TA и 63GG 5 экзона *GSTA2*. Комбинации генотипов, для которых были получены достоверные ассоциации с развитием ГТР, усиливали гепатотоксическое действие ПТП. При интермиттирующем приеме у носителей генотипа медленного ацетилирования *NAT2* в сочетании с генотипом *GSTP1**A/B или *B/B или генотипом 63CC 5 экзона *GSTA2*, наблюдалось достоверное ($p < 0,05$) повышение активностей АЛТ в динамике лечения. При ежедневном приеме ПТП наиболее сильное повышение активностей АЛТ наблюдалось у пациентов, с генотипом медленного ацетилирования в сочетании с генотипами *CYP2E1**7632TA или 63GG 5 экзона *GSTA2*. Результаты исследования показывают, что изученные признаки перспективны для прогнозирования ГТР у больных туберкулезом.

Литература:

1. Huang Y.S. Genetic polymorphisms of drug-metabolizing enzymes and the susceptibility to antituberculosis drug-induced liver injury. // Expert Opin. Drug Metab. Toxicol. – 2007. – V. 3, N. 1. – P. 1–8.

КОНСТРУИРОВАНИЕ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ ХОЛОДОАКТИВНЫХ ЛИПАЗ НА ОСНОВАНИИ ГЕНОМНОГО И ПРОТЕОМНОГО АНАЛИЗА *PSYCHROBAC- TER CRYOHALOLENTIS* K5^T

Новотоцкая-Власова К.А.¹, Петровская Л.Е.², Крюкова Е.А.², Гиличинский Д.А.¹

¹ ИФХиБПП РАН, Пущино

² ИБХ РАН, Москва

Вечная мерзлота, занимающая более 50% территории России, является средой обитания микроорганизмов, выживающих в течение геологически длительного периода времени в условиях низких температур. Одним из способов выживания этих организмов является синтез холодо-активных ферментов, в том числе липаз. Липолитические ферменты с пониженным температурным оптимумом представляют интерес для использования их в различных биотехнологических процессах.

Объектом наших исследований стала психротрофная бактерия *Psychrobacter cryohalolentis* K5^T, выделенная из линзы отрицательнотемпературного рассола в толще многолетнемерзлых пород. Наличие липолитической активности у этого микроорганизма было показано стандартными микробиологическими тестами.

На сегодняшний момент геном *Psychrobacter cryohalolentis* K5^T полностью секвенирован. С помощью геномного анализа, а также последующих протеомных исследований было установлено, что основные механизмы адаптации бактерии к условиям холодных местобитаний включают в себя в том числе синтез холодоактивных ферментов. Это позволило нам, используя имеющуюся информацию о липазах родственных микроорганизмов, провести поиск в геноме *P.cryohalolentis* K5^T генов белков-гомологов этих ферментов. Для дальнейшего исследования были выбраны 2 гена, кодирующие потенциальные липазы: Pcryo_0023 и Pcryo_2458. С помощью генспецифичных праймеров они были амплифицированы на матрице бактериальной ДНК и клонированы в плазмидный вектор рЕТ32а. Сконструирована система экспрессии этих генов в *E.coli*. Очищенные белки Pcryo_0023 и Pcryo_2458 охарактеризованы физико-химическими методами. Показана высокая липолитическая активность ферментов Pcryo_0023 и Pcryo_2458 при низких температурах, а также относительно высокая стабильность Pcryo_0023 при высоких температурах.

Таким образом, использование геномного и протеомного анализа психротрофных микроорганизмов является перспективным подходом для обнаружения новых холодо-активных ферментов и создания их штаммов-продуцентов для биотехнологического использования.

SYSTEM CHANGES OF EXPRESSION OF BASAL METABOLISM GENES IN CANCER CELLS

Oparina N., Mashkova T.

EIMB RAS, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Moscow, Russia

The complex nature of cancerogenesis includes numerous steps leading to cellular microevolution to immortal neoplasm. Despite obvious progress in oncogenomics during last decades, the correct mechanism of malignization is still unclear, and cancer gene networks are still actively studied. Differential gene expression is detected mainly using normalization of the total RNA/cDNA quantity and/or so-called reference genes expression. Most of such “invariably” expressed genes belong to evolutionary conserved metabolic pathways such as glycolysis. However, only a small fraction of same metabolic game players is included into “invariable” section. Recent studies also have demonstrated that in some cases metabolic processes are considerably changed in tumors. We have selected main conserved human metabolic pathways, such as: glycolysis, citric acid cycle, oxidative phosphorylation, pentose phosphate pathway, urea cycle, fatty acid β -oxidation and gluconeogenesis. The gene networks of these processes were modeled basing on transcriptomic changes in cancer cells according to microarray-based and sequence-based public data, including publicly available next-generation sequencing data for normal and tumor human cells. The high level of disagreement in mRNA expression of same-pathway genes was detected. The fraction of cancer-related non-functional isoforms of these genes was calculated. Comparative analysis of detection frequency of encoded proteins for these genes was performed. Combined data of splicing changes and proteome analysis were used for estimating the fraction of functional metabolic proteins. This function-based analysis confirmed and strengthened the occurrence of basal metabolic pathway disorders in human cancers. The comparative analysis of early and late cancerogenesis stages allowed us to detect the early nature of some cancer-related metabolic disorders. The surprisingly more stable expression was described for genes involved in later metabolic steps than for early-step genes for such processes like glycolysis and gluconeogenesis.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ОРТОЛОГОВ РЕЦЕПТОРА ТИРЕОИДНОГО ГОРМОНА У ПЛОСКИХ ЧЕРВЕЙ *OPISTHORCHIS FELINEUS*.

Воронцова Е.В., Пахарукова М.Ю., Ершов Н.И., Катохин А.В.,
Меркулова Т.И., Мордвинов В.А.
ИЦиГ СО РАН, Новосибирск

Ядерные рецепторы являются транскрипционными факторами, участвующими в репродукции, эмбриогенезе, регуляции клеточного гомеостаза. Доменная организация ядерных рецепторов включает: высоко консервативный ДНК-связывающий домен и умеренно консервативный лиганд-связывающий домен. Ядерные рецепторы - это довольно древние белки и поэтому представлены во всех группах многоклеточных животных, но некоторые из них являются специфичными для определенных филогенетических групп. Ранее позиционировалось, что ядерные рецепторы тиреоидных гормонов представлены только у позвоночных и играют ключевую роль в их метаморфозе и развитии. Однако, при анализе секвенированных геномов беспозвоночных, были найдены ортологи рецептора тиреоидных гормонов у некоторых представителей моллюсков, дафний, нематод и плоских червей. Используя высококонсервативный ДНК-связывающий домен тиреоидного рецептора, мы идентифицировали два тиреоидных рецептора у паразитических плоских червей *Opisthorchis felineus*. В структуре ДНК-связывающего домена описторха выявлены последовательности аналогичные двум цинковым пальцам, а так же участок, ответственный за связывание с ДНК, так называемый Р-бокс, который по своему аминокислотному составу был абсолютно идентичен у позвоночных и плоских червей: SEGCKFFRR. Данная идентичность предполагает аналогичную регуляцию генов мишеней рецептором тиреоидных гормонов у плоских червей и у позвоночных. При сравнении ДНК связывающего домена тиреоидного рецептора описторха и позвоночных по аминокислотному составу было выявлено 60% идентичности. Лиганд-связывающий домен для обоих рецепторов был определен как 1FM6_d, принадлежащий семейству 1 ядерных рецепторов, по структуре схожий с лиганд-связывающим доменом таких ядерных рецепторов, как PPAR гамма и RXR человека, способных связывать 9-цис ретиноевую кислоту. Идентификация ортологов тиреоидного рецептора у *Opisthorchis felineus*, не имеющих своей собственной эндокринной системы, может помочь в понимании формирования системы тиреоидного гормона у хордовых и позвоночных, а так же внести вклад в реконструкцию эволюционных событий на основе ядерных рецепторов.

Работа поддержана грантом РФФИ N 11-04-01333а.

ЦИТОХРОМ P450 У ПАРАЗИТИЧЕСКИХ ПЛОСКИХ ЧЕРВЕЙ НА ПРИМЕРЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ ОПИСТОРХОЗА *OPISTHORCHIS FELINEUS*

Пахарукова М.Ю.¹, Ершов Н.И.¹, Вавилин В.А.², Воронцова Е.В.¹,
Катохин А.В.¹, Меркулова Т.И.¹, Мордвинов В.А.¹

¹ИЦиГ СО РАН, Новосибирск

²ИМБиб СО РАМН, Новосибирск

Цитохромы P450 (CYP450) представлены во всех царствах живой природы, однако долгое время из-за неудачных попыток их выявления считалось, что у паразитических червей отсутствуют и сами CYP450 и способность окислять ксенобиотики и лекарственные препараты. *Opisthorchis felineus* - представитель паразитических плоских червей класса Trematoda семейства Opisthorchiidae, является одним из возбудителей описторхоза. Целью данной работы было выявление генов семейства цитохромов P450 у *O. felineus*, анализ экспрессии, исследование структуры и активности кодирующих белков, а также сравнение с ортологичными генами, собранными *in silico* из нуклеотидных баз данных по плоским червям. Мы показали, что у *O. felineus* представлен один ген семейства белков P450. Анализ последовательностей из необработанных данных геномов и транскриптомов плоских червей показал, что у других паразитических видов (Schistosomatidae, Opisthorchiidae, Taeniidae, Fasciolidae) цитохром P450 также всего один. CYP450 содержит консервативный Pfam00067 домен, характерный для CYP микросомального типа II эукариот, и N-концевой трансмембранный домен. Несмотря на низкую гомологию аминокислотных последовательностей (22%), мы обнаружили высокое сходство 3D структуры с CYP2E1 человека (Phyre 2). Следует отметить, что CYP *O. felineus*, окисляя хлорзоксазон, обладает ферментативной монооксигеназной активностью, специфичной для CYP2E1 человека. Наибольший уровень экспрессии CYP (Real-time PCR) наблюдается на стадии внутри хозяина млекопитающего, и не изменяется в ответ на основные типы индукторов CYP. На этой стадии уровень мРНК очень высокий, сравним с экспрессией нескольких генов «домашнего хозяйства». CYP выделяется в микросомах в количестве, сравнимом с индуцированными микросомами CYP млекопитающих. Таким образом, мы впервые показали наличие у *O. felineus* функционального белка системы метаболизма ксенобиотиков и лекарственных препаратов. Высокая конститутивная экспрессия белка CYP свидетельствует о значительной роли этого белка для паразита.

Работа поддержана грантом РФФИ N 11-04-01333а.

RECOMBINATION-ASSOCIATED GENERATION OF MICRO-SATELLITES IN MAMMALIAN GENOMES

Fridman M.¹, Oparina N.², Kulakovskiy I.¹, Makeev V.¹

¹. *VIGG RAS, Vavilov Institute of General Genetics, Moscow, Russia*

². *EIMB RAS, Engelhardt Institute of Molecular Biology, Moscow, Russia*

Previously we have demonstrated that frequent repeats in mammal genomes are generated by active retroposons. In the present study we describe the influence of recombinational event on the micro- and minisatellites generation. We have examined flanking regions of 4-6 bp tandem repeats in human and mouse genomes. In most cases the retroposons were detected in the close vicinity of tandem repeats of frequent monomer-type (FTR). By the way, not all cases of frequent tandem repeat types could be explained by retroposon integration. Additionally, the active SINEs were co-located with tandem repeats ~1000-times more frequent than LINEs despite their genomic occurrence. The not-retroposon fraction of FTR was also detected. Comparative analysis of flanking regions allowed us to detect the preferred location of FTRs in the hot zones of segmental duplications, including duplicon boundaries. The comparative analysis of genome-wide distribution of FTRs demonstrated the high level of co-location of FTRs with similar monomers in nearest genomic regions.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ - АЛЬФА У БОЛЬНЫХ АЛКОГОЛИЗМОМ

Ефременко Е.С., Поморгайло Е.Г., Высокогорский В.Е.

ГБОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития РФ, г. Омск

Молекулярные механизмы повреждения клеток внутренних органов при алкоголизме могут быть связаны с изменением уровня секреции различных видов интерлейкинов. В частности, увеличение продукции фактора некроза опухоли - альфа у больных алкоголизмом сопряжено с поражением клеток печени. В значительной степени определяющим уровнем синтеза фактора некроза опухоли – альфа является полиморфизм **G -308 A промоторного участка гена данного фактора. Считается, что наличие аллеля А сопровождается гиперпродукцией фактора некроза опухоли – альфа [2]. Его избыточная секреция ведет к нарушению функции митохондрий, отеку гепатоцитов, индукции апоптоза [1].**

В связи с этим целью работы явилось исследование генотипов полиморфного локуса **G -308 A гена фактора некроза опухоли – альфа у пациентов в возрасте 35-50 лет с диагнозом «Психические и поведенческие расстройства в результате употребления алкоголя, средняя стадия. Синдром активной зависимости. Состояние отмены, неосложненное, средней степени тяжести» (F.10.242, F.10.302). Контрольную группу составили 89 условно здоровых лиц аналогичной возрастной категории. Анализ полиморфных локусов указанных генов осуществлялся с помощью метода полимеразной цепной реакции в стандартных условиях на амплификаторе «Терцик» («ДНК-Технология», г. Москва). Сила ассоциации оценивалась в значениях показателей отношения шансов (OR).**

Значения OR для генотипов **G/G, G/A, A/A составили 0,981, 2,716, 0,282, соответственно. Величина OR >1 свидетельствует о положительной ассоциации генотипа G/A с наличием диагноза у группы обследуемых и позволяет расценивать выявленные изменения в качестве «фактора риска» развития поражения структур клеток внутренних органов при алкогольной интоксикации, что может иметь значение в оценке прогноза возникновения развития осложнения у больных алкоголизмом.**

Список литературы:

1. Подымова С.Д. Механизмы алкогольного повреждения печени // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. – 1998. – № 5. – С. 21-25.
2. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation / A.G. Wilson et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1997. – Vol. 94. – P. 3195.

МОДИФИЦИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ МАЛЫХ МОЛЕКУЛ НА БЕЛОК-ЛИГАНДНОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ

Колотьева Н.А.¹, Шахнович Е.А.¹, Нефедова Н.С.¹, **Рыскина Е.А.²**,
Епифанова А.А.¹, Колесова К.И.¹, Долгова О.А.¹

¹ ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России, Самара

² ГОУ ВПО «Российский университет дружбы народов», Москва

В проведенных нами экспериментах решалась задача по выяснению возможности влияния этанола, низкомолекулярного, химически активного, дифильного соединения, образующегося в организме и поступающего наряду с нутриентами извне, на процессы белок – лигандного взаимодействия и соответственно на выполняемую ими функцию. Объектом исследования являлись растворимые белки плазмы крови – иммуноглобулины и антигены системы АВО - гликопротеины, гликолипиды, структурированные в мембранах эритроцитов. Критерием оценки влияния или отсутствия эффекта служило два параметра: время наступления и интенсивность агглютинации при взаимодействии антигена с антителом. Оценено влияние этанола на изолированные белки моноклональных антител, высоко и низкомолекулярные компоненты цельной крови, включая антитела и эритроциты **О(I)- АВ(IV) групп крови человека, а также А- и В-антигены.**

Установлено, что алкоголизация моноклональных антител обуславливает облегчение узнавания анти А- и анти-В-антител антигенами эритроцитов **А(II) и В(III) групп крови.** Показано, что действие этанола на систему цельной крови оказывает модифицирующее влияние на иммуноглобулины плазмы, способствуя более быстрому узнаванию антител антигенными детерминантами А-антигена и замедляет этот процесс с В-антигеном.

Во всех сериях эксперимента выявлено, что антигены **АВ(IV) группы при взаимодействии с моноклональными антителами и антителами плазмы крови человека, обработанными этанолом, вступают во взаимодействие аналогично контрольным образцам.** Существенно снижается полнота взаимодействия, процесс преципитации белковых комплексов. По-видимому, сочетание двух антигенных детерминант обеспечивает узнавание модифицированных антител, аналогично контрольным образцам. При этом нивелируется специфика, характерная для антиА и антиВ-антигенов. Гликопротеиновые и гликолипидные компоненты антигенов, участвующие в процессе взаимодействия антигена с антителами менее интенсивно образуют комплексы. Очевидно, стерические, электростатические изменения иммуноглобулинов, обусловленные взаимодействием функциональных групп белка с этанолом так изменяет макромолекулу белков, что это приводит к неполноте агглютинации. Определенный вклад в неоднородность полученных результатов вносит фенотипическое многообразие А- и В-антигенов.

ИССЛЕДОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМОВ ДЕЙСТВИЯ BDNF, НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА С ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ АНТИДЕПРЕССИВНОЙ АКТИВНОСТЬЮ, НА МОДЕЛИ ГЕНЕТИЧЕСКИ ОБУСЛОВЛЕННОГО ДЕПРЕССИВНОПОДОБНОГО СОСТОЯНИЯ У МЫШЕЙ

Тихонова М.А., Базовкина Д.В., Кондаурова Е.М., Науменко В.С., Куликов А.В., Попова Н.К.

ИЦиГ СО РАН, Новосибирск

За последнее время накоплены многочисленные свидетельства о ключевой роли дефицита нейротрофических факторов в патогенезе депрессивных расстройств. Однако серьезной проблемой, препятствующей применению нейротрофических факторов для терапии расстройств ЦНС, является их неспособность преодолевать гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Поэтому особую актуальность приобретает изучение молекулярных механизмов антидепрессивного действия нейротрофических факторов и разработка на их основе эффективных антидепрессантов нового поколения. Ранее мы показали, что одно- или двукратное центральное введение нейротрофического фактора BDNF (**Brain Derived Neurotrophic Factor**) мышам линии ASC (**Antidepressant Sensitive Catalepsy**), селекционированной в нашей лаборатории на высокую предрасположенность к каталепсии и предложенной как модель генетически обусловленного депрессивноподобного состояния, оказывало антидепрессантоподобные эффекты на поведение в рамках данной модели (снижение проявлений каталепсии, снижение времени неподвижности в тесте подвешивания за хвост, нормализация сниженной половой мотивации). Основной известной мишенью BDNF в головном мозге являются TrkB рецепторы. Недавно был синтезирован селективный агонист этого типа рецепторов, 7,8-дигидроксифлавонол, который проходит через ГЭБ. Однако ни однократная (5 мг/кг, в/бр), ни длительная (5 мг/кг, в/бр, 7 дней) активация TrkB рецепторов агонистом не вызвала сходных с эффектом BDNF улучшений в поведении мышей ASC. В то же время, введение BDNF приводило к долговременному усилению уровней экспрессии генов *Bdnf*, *Creb1*, *Arc* и генов серотониновых рецепторов 5-HT_{1A} и 5-HT_{2A} подтипов в гиппокампе и гена *Arc* в коре мозга. Данные исследования свидетельствуют, что механизмы долгосрочных эффектов BDNF на поведение, связанные с его антидепрессивной активностью, по-видимому, значительно отличаются от известных механизмов немедленного действия BDNF, осуществляемых через TrkB рецепторы головного мозга.

Работа поддержана программой Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» (проект №5.1) и грантом РФФИ (09-04-00717-а).

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА РЕКОМБИНАНТНЫХ ВАРИАНТОВ БЕЛКА VP24 ВИРУСА ЭБОЛА

Шелемба А.А., Гуляева Л.Ф.

НИИМББ СО РАНМ, Новосибирск

Вирус Эбола (ВЭ) вызывает у человека острую геморрагическую лихорадку с летальностью, достигающей 80-90%. Известна корреляция между уровнем вирулентности вируса и его способностью подавлять ИФН-зависимый противовирусный ответ. Известно также, что адаптация вируса Эбола к морским свинкам и мышам, сопровождающаяся ростом вирулентности для этих животных, коррелирует с появлением единичных замен в геноме белка vp24. В данном исследовании сделана попытка оценить влияние рекомбинантного белка vp24 ВЭ в авирулентной (vp24-д) и вирулентной (vp24-8мс) конфигурации на интерферогенез. Для этого *in vivo* и *in vitro* исследовали влияние этих рекомбинантных белков на индукцию интерферона ридостином.

In vivo вводили мышам индуктор интерферона ридостин в дозе 10 мкг внутримышечно в заднюю лапу. Отмечен интерферогенный эффект с максимальным титром антивирусной активности через 48 часов после введения препарата. Одновременное введение ридостина и рекомбинантного белка vp24 как в авирулентной так и в вирулентной конфигурации приводило к подавлению индукции интерферона.

In vitro в образцы крови, разведенной 1/5 средой RPMI 1640 вносили ридостин и инкубировали при 37°C и 5% CO₂ в течение 24 часов, после чего надосадки вносили на сформированный монослой перевиваемой культуры фибробластов легких эмбрионов мышей L929 в разведениях. Через 24 часа вносили ЦПД₁₀₀ вируса энцефаломиокардита мышей. Выявив, таким образом, уровень интерферон индуцирующей активности опыт повторили, добавляя в образцы крови помимо ридостина по 1 мкг/мл vp24-д или vp24-8мс. Одновременное введение ридостина и рекомбинантного белка vp24-д или vp24-8мс приводило к полному подавлению антивирусной интерфероновой активности супернатантов крови.

Таким образом, показано, что рекомбинантные аналоги белков vp24-д и vp24-8мс представляющие белок vp24 ВЭ в авирулентной и вирулентной для морских свинок и мышей конфигурации ингибируют интерферогенез *in vivo* и *in vitro*. При этом не выявлено отличий в способности к ингибированию между этими двумя конфигурациями белков.

UGENE AND EXPERT DISCOVERY: INTEGRATED SYSTEM FOR ANALYSIS OF GENES' REGULATORY REGIONS

Vaskin Y.Y.³, Vityaev E.E.², Khomicheva I.V.^{1,2}

¹*ICG SB RAS, Novosibirsk*

²*IM SB RAS, Novosibirsk,*

³*NSU, Novosibirsk*

Analysis of regulatory regions of genes is a complex and actual problem of modern biology.

The relational ExpertDiscovery software system has been developed for extracting complex signals of organization of the genes' regulatory regions. As elementary signals for construction of the complex signals the systems uses different characteristics of genetic sequences which were found by other methods. Combining the complex signals, which were found on the different hierarchical levels, ExpertDiscovery allows constructing of difficult hierarchical model of the regulatory region. Practicability of the ExpertDiscovery system for the analysis of contextual structure of a gene was shown on different levels of structural and functional hierarchy [1, 2].

Within the bounds of the project ExpertDiscovery was integrated into cross-platform genome analysis suit UGENE as a plugin [ugene.unipro.ru]. UGENE integrates many popular algorithms, which extract the elementary signals. The modules of the system have the same interface and task logic. Applying the ExpertDiscovery algorithm to the modules' output allows taking into account all the possible information about the analysed sequences, which is important for the quality of the regulatory region modelling [2].

After all, UGENE has lots of users all over the world. This gives a possibility to make ExpertDiscovery better and introduces to widespread using of it.

Литература:

1. Khomicheva I.V., Vityaev E.E., Ananko E.A., Shipilov T.I., Levitsky V.G. ExpertDiscovery system application for the hierarchical analysis of eukaryotic transcription regulatory regions based on DNA codes of transcription. *Intelligent Data Analysis*. v.12(5), IOS Press, 2008 pp. 481-494.
2. Khomicheva I., Vityaev E., Vaskin Y., and Shipilov T. Analysis and Prediction of Regulatory Regions of Eukaryotic Genes by integrated UGENE and ExpertDiscovery Systems. Special issue: ECML/PKDD 2011 (5th Workshop on Data Mining in Functional Genomics and Proteomics: Current Trends and Future Directions), in print.

НАРУШЕНИЕ СТРУКТУРЫ ТЕЛОМЕРНОГО КВАДРУПЛЕКСА НОВЫМ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫМ ДНК-ЛИГАНДОМ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИЗМЕРЕНИЯ И МОДЕЛИРОВАНИЕ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ

Цветков В.Б.¹, Калюжный Д.Н.², Щекотихин А.Е.³, Ильинский Н.С.⁴,
Веселовский А.В.¹, Штиль А.А.⁵, Борисова О.Ф.², Щелкина А.К.²

¹НИИ БМХ им. В.Н.Ореховича РАМН, Москва

²ИМБ им. В.А.Энгельгардта РАН, Москва

³НИИНА им. Г.Ф.Гаузе РАМН, Москва

⁴МФТИ (ГУ), Долгопрудный, Московская область

⁵РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН, Москва

Цель работы – установить механизм взаимодействия нового противоопухолевого соединения 4,11-бис[(2-{{ацетимидо}амино}этил)амино]антра[2,3-*b*]тиофен-5,10-диона (**1**) с различными структурами ДНК. Соединение **1** образует комплексы ($K_{\text{асс}} \sim 10^6 \text{ M}^{-1}$) с антипараллельным квадруплексом $d(\text{TTAGGG})_4$, образуемым ДНК теломер человека. В присутствии **1** и Na^+ структура квадруплекса претерпевала существенную дезорганизацию. Для уточнения механизма нарушения структуры, оценки энергии сродства и мест вероятного связывания квадруплекса с **1** использована процедура докинга (программа Dock 6.4). При расчете ван-дер-Ваальсовой компоненты межатомных взаимодействий использовали силовое поле Amber. Наиболее вероятным сайтом связывания **1** может быть полость, формируемая диагональной петлей с ближайшим к ней G-квartetом квадруплекса (рис. 1А). Влияние **1** на структуру квадруплекса изучали методом молекулярной динамики (МД; Amber 8). В МД расчётах растворитель учитывался неявным образом с помощью обобщенной модели Борна и с учетом гидрофобного вклада поверхности, доступной растворителю. Результаты МД после 10 нс вычислений показали, что **1** нарушает структуру квадруплекса: вытесняет основания крайнего квартета и формирует стэкинг-взаимодействия с основанием, входящим в состав центрального квартета (рис.1Б). Результаты моделирования согласуются с данными экспериментов *in vitro*, демонстрирующими частичное или полное разрушение квартетной структуры квадруплекса.

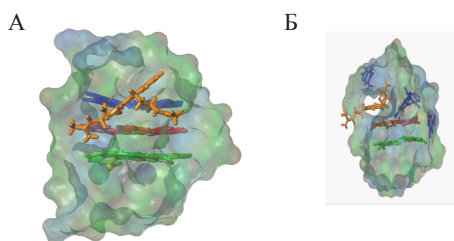


Рис. 1.

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 6.12.2011 г.
Формат бумаги 70 × 108 1/16. Усл.-печ. л. 2,27. Уч.-изд. л. 1,97
Тираж 35 Заказ 72

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