

## **ПОДСЕКЦИЯ «ГЕНЕТИКА»**

*Устные доклады*

### **Mitochondrial DNA gene pool structure of Armenian population**

***Hovhannisyán Grant, Khachatryan Zaruhi***

*Laboratory of Ethnogenomics, Institute of Molecular Biology NAS, Yerevan, Armenia,*

*grant.hovhannisyán@gmail.com*

Armenians are an autochthonous ethnic group of the Armenian Highland with strong and distinct ethnic and cultural characteristics. The genetic structure of Armenians was predominantly studied through Y-chromosomal markers. However, the matrilineal portion of the genetic history of Armenians is still poorly elucidated. To address this question, we have investigated the maternal genetic structure of four Armenian groups and compared the results with those of neighboring populations.

We examined the mtDNA HVRI typing results of four geographically distinct Armenian populations: Central Armenians (CA, n=85), Khoy (K, n=200), Eastern Armenians (EA, n=61), and Western Armenians (WA, n=44). The data of neighboring populations were taken from the literature. Gene diversity parameters were evaluated by DnaSP5.  $F_{ST}$  genetic distance calculation and population differentiation test were made using Arlequin v.3.5. UPGMA phylogenetic tree was constructed by PHYLIP package.

The frequency analysis of mtDNA haplogroups revealed a similar haplogroup distribution in all Armenian populations. Haplogroups H, U, J and T in summary compose ~70% of mtDNA lineages of each Armenian groups, with modal haplogroup H reaching 21%, 21%, 23% and 29% in CA, WA, EA and K, respectively. All Armenian groups showed high degree of haplotype diversity, with the highest value observed in CA (0.995). The Exact test of population differentiation showed no significant differences between the Armenian populations. Moreover, the absence of differentiation was also found between Armenians and some ethnic groups of the Caucasus and the Levant. However, the Armenians formed a distinct clade on the phylogenetic tree of the populations studied.

Our results demonstrate that the matrilineal genetic pool of Armenian populations from different geographic regions of Historical Armenia is quite diverse. Yet, the genetic structures of these territorial groups do not differ significantly from each other, which might be the result of the cultural practice of patrilocality among Armenians.

### **Молекулярно-генетическое исследование роли мобильных элементов в формировании неинвазивных форм рака**

***Владими́рова Инна Валерьевна***

*МГУ имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия,*

*vladimirova-bph@yandex.ru*

Рак молочной железы является наиболее распространенной формой рака среди женщин и второй по значимости причиной смерти женщин от рака во всем мире. Основной причиной столь высокой смертности является распространение метастазов по лимфатическим путям и в первую очередь поражение ближайших — подмышечных лимфатических узлов. Источник рака молочной железы человека не был установлен. Существует ряд исследований по эпидемиологии рака и животных, доказывающих важную роль мобильных элементов и экзосом в развитии некоторых типов рака груди, в том числе рака молочной железы. Целью нашей работы является углубленное изучение роли мобильных элементов в формировании неинвазивных форм рака.

Нами были проанализированы 9 разных линий опухолей. Из представленных образцов была выделена РНК. С помощью обратной транскрипции получены кДНК. С использованием пар праймеров к некоторым эндогенным ретровирусам проведен количественный анализ уровня представленных транскриптов с использованием ПЦР «в реальном времени». В качестве референсного гена взят  $\beta$ -актин. Обнаружены достоверные отличия по некоторым эндогенным ретровирусам между линиями.

Методы оценки инфекционной и мобильной составляющей HERV частиц остаются одной из основных проблем в понимании биологии этих и других эндогенных ретровирусов. Данная работа позволяет прояснить взаимосвязь между протеканием болезни и активностью ретровирусов.

## **Филогенетические взаимоотношения хирономид ассоциированных с водной растительностью озера Байкал**

*Глызина Мария Александровна*

*Иркутский Государственный Университет, Иркутск, Россия, mariya0492@gmail.com*

Вопросы коэволюции беспозвоночных животных и растений с применением молекулярно-генетических маркеров в настоящее время слабо изучены и представляют несомненный интерес для понимания механизмов формирования биоразнообразия природных экосистем. В рамках этой проблемы начаты исследования филогенетических взаимоотношений хирономид, ассоциированных с водной растительностью озера Байкал.

Личинки хирономид (125 экз.) были собраны в разных районах озера в 2006-2013 гг. в зарослях высших водных растений *Myriophyllum spicatum*, *Potamogeton perfoliatus* и водорослей *Ulothrix zonata* и зафиксированы 70% этанолом. ДНК экстрагировали из личинок по методу Дойла и Диксон (Doyle, Dickson, 1987), ПЦР включала 30 циклов по 45 сек при температуре отжига праймеров 41°C. Расшифровано 49 последовательностей нуклеотидов первой субъединицы цитохром с оксидазы митохондриальной ДНК (CO1 мтДНК), длиной 540 п.н. Для построения филогенетического дерева модель нуклеотидных замен (HKY+I+G) определяли с использованием программы jModelTest. Филогенетическое древо строили с помощью программы Phym1 на основе 116 последовательностей CO1 мтДНК представителей п/сем. Orthoclaadiinae из родов *Cricotopus* и *Orthocladius*, из них 67 из GenBank. На филогенетическом древе байкальские виды *Cricotopus* sp. образуют единую кладу с *Cricotopus sylvestris*, а *Orthocladius gregarius* - с *Orthocladius nitidoscutellatus*.

*Cricotopus* sp. обитает на *M. spicatum*, его сестринский вид *C. sylvestris* можно обнаружить в реке Ангара на заиленном песке, в Байкале на камнях в зоне улетрикса и тетраспоры. *C. sylvestris* найден в Кореи в чистых водоемах и на рисовых полях, в водоемах Японии.

*O. gregarius* в Байкале обитает на камнях, поросших зелеными нитчатыми водорослями в южной части озера. Ареал сестринского вида *O. nitidoscutellatus* широк, встречается он в горных реках Патагонии (Аргентина), в арктических озерах на Аляске, в Китае, США.

По-видимому, байкальские хирономиды и сестринские им виды, имеют сходные требования к окружающей среде, они предпочитают холодные чистые олиготрофные водоемы с водной растительностью, поэтому и генетически являются близкородственными.

## **ДНК – маркеры – инструмент для изучения генетического разнообразия *Zea mays L.***

***Гогова Фатимат Мулидовна***

*Кабардино-Балкарский государственный университет имени Х.М. Бербекова,  
биологический факультет, Нальчик, Россия, fatima.gogova@mail.ru*

Оценка генетического разнообразия вместе с информацией о родословной и основных полигенных агрономически важных признаках обеспечат объективную основу для описания генотипов и их регистрации. Либеризация рынка семян, создание в странах СНГ частных селекционно-семеноводческих предприятий усиливает необходимость контроля и охраны прав авторов коммерчески используемых сортов, линий, гибридов. Молекулярно-генетическая идентификация линий (точная, объективная, достаточно быстрая) необходима для осуществления контроля генетической выравненности генотипов, установления их оригинальности и соответствия стандарту при обмене линиями между селекционными учреждениями.

В связи с вышеизложенным, целью наших исследований является исследование генетического разнообразия сортов, линий и гибридов *Zea mays L.* с помощью ДНК – маркеров.

Анализ и классификация огромного резерва изменчивости, выявляемого на уровне ДНК и определяющего генетическое разнообразие культивируемых видов растений, является исключительно актуальным как для прикладной генетики, так и для селекции, так как часть этих нуклеотидных изменений в итоге определяет фенотипическую изменчивость. Осуществлена молекулярно-генетическая идентификация сортов, линий и гибридов кукурузы селекции кафедры общей генетики, селекции и семеноводства КБГУ по ряду праймеров.

Одним из современных инструментов для решения указанных теоретических и практических проблем растениеводства является использование молекулярных маркеров. Отбор с их помощью (Marker Assisted Selection, MAS) позволяет на качественно новом уровне осуществлять селекционный процесс. Преимуществом его использования является возможность изучения генетического контроля признака, локализации соответствующего гена или генов в хромосоме.

Успехи, достигнутые использованием ДНК - маркерных систем в решении самых разных проблем биологии и сельского хозяйства очевидны. Разные ДНК - маркерные системы (в первую очередь, наиболее доступные, такие как RFLP, RAPD, AFLP) достаточно широко и эффективно используются для выяснения степени генетических связей на внутривидовом и межвидовом уровнях. В последние годы, достигнут значительный прогресс в развитии ДНК-маркерных технологий с целью их широкого практического использования в сортоиспытании, семеноводстве и семенном контроле. С помощью ДНК-тестов можно получать ценную информацию о свойствах сортов и обоснование их различий. В некоторых случаях сорта могут быть не различимы стандартными методами белкового анализа и к решению такого рода проблем привлекаются ДНК-маркеры.

## **Вклад различных структурных участков гена EF1a в формирование расчетной генетической дистанции в разных таксонах тлей**

***Головенчик Виктория Ивановна***

*Белорусский государственный университет, биологический факультет, Минск,  
Республика Беларусь, vika.golovenchik@mail.ru*

Ген EF1a – один из важнейших молекулярных филогенетических маркеров насекомых. Этот ген имеет интрон-экзонную структуру, то есть одновременно содержит кодирующие и некодирующие участки ДНК. Как известно, эквивалентность скорости нуклеотидных

замещений в филогенетических линиях и в различных участках гена является важным условием получения корректных филогений. Поскольку в литературе до сих пор отсутствовали данные о скорости нуклеотидных замещений в разных сегментах EF1a, мы оценили вклад конкретных участков гена в формирование генетических дистанций.

Мы проанализировали 506 последовательностей EF1a 221 вида тлей из 6 семейств в диапазоне с 200 по 1400 нуклеотид полноразмерного гена. Оказалось, что экзоны EF1a тлей обладали постоянной длиной. Интроны по длине варьировали незначительно, даже при сравнении видов, принадлежащих к разным семействам.

Средние генетические дистанции (MCL), рассчитанные по белок-кодирующим областям для каждого семейства тлей в отдельности, почти не различались. Однако в семействах Aphididae, Normaphididae и Lachnidae наблюдались значительные различия в значениях средних генетических дистанций, рассчитанных отдельно для второго и третьего интронов гена. А именно, в семействе Aphididae межвидовые генетические дистанции, рассчитанные для второго интрона, были в среднем в 3 раза больше, чем дистанции по второму интрону. В то же самое время, межродовые генетические дистанции по интрону 2 и 3 варьировали мало. В семействе Normaphididae наблюдалась обратная ситуация: межвидовые генетические дистанции, рассчитанные по второму интрону, были в среднем на два порядка больше (до 74 раз), чем дистанции, рассчитанные для третьего интрона тех же самых последовательностей. Напротив, в семействах Pemphigidae и Lachnidae между вторым и третьим интронами генетические дистанции различались мало как между видами, так и между родами.

Таким образом, показано, что изменчивость нуклеотидного состава разных участков гена EF1a в отдельных семействах тлей не одинакова. Данный факт требует аккуратного использования гена в качестве филогенетического маркера, из-за возможного искажения получаемых филограмм.

### **P-фактор и P-элемент при РМ гибридном дисгенезе у *Drosophila melanogaster***

***Игнатенко Олеся Михайловна***

*Новосибирский государственный университет, факультет естественных наук*

*Институт цитологии и генетики СО РАН, лаборатория генетики популяций Новосибирск,*

*Россия, ignatenkolesya@bionet.nsc.ru*

РМ внутривидовой гибридный дисгенез (ГД) – комплекс различных генетических аномалий, которые проявляются в F1 при скрещивании некоторых пар линий *D. melanogaster*. Наиболее яркий симптом ГД – стерильность самок, возникающая из-за недоразвития яичников в одном из направлений скрещивания. Отцовский (Р) фактор представлен в геномах некоторых линий и вызывает ГД при контакте с материнской (М) цитоплазмой, в которой данный фактор отсутствует. Считается, что детерминанты ГД появились в геноме *D. melanogaster* в середине 20-го века и широко распространились в диких популяциях в течение последующих лет. Полагают, что ГД индуцируется активным перемещением мобильного генетического элемента Р, имеющегося в геномах Р-линий и отсутствующего в М-линиях.

ПЦР-анализ показал, что все линии, взятые нами в анализ из четырех разных популяций (16 линий из популяции Евразии (Montpellier), 14 из Африки (Accra) и 22 из Америки (7 линий из Raleigh, 15 линий из Athens) содержат полноразмерный Р-элемент, но при этом имеют различные цитотипы. Эти данные противоречат утверждению, что М-линии не содержат Р-элемент и согласуются с данными, полученными другими исследователями. Мета-анализ литературных данных, включая наши данные распространенности детерминант ГД в природных популяциях спустя 40 лет после их выявления (всего проанализировано 268 линий

из нескольких десятков популяций) показывает, что доля Р-линий в природе не увеличилась ни на одном из континентов, то есть детерминанты ГД не получили дальнейшего распространения.

Мы проанализировали распределение Р-элемента в геномах диких и лабораторных линий *D. melanogaster* методом FISH. В диких линиях обнаружено несколько десятков копий Р-элемента на геном, в лабораторных линиях Р-элемента нет или в геноме присутствуют лишь его единичные копии. Отсутствие Р-элемента в геноме некоторых лабораторных линий не обязательно приводит к проявлению признаков ГД при скрещивании с Р-линиями. Таким образом, распространение Р-фактора и Р-элемента в геноме *D. melanogaster* не коррелируют друг с другом. Эти данные говорят о том, что Р-элемент вряд ли выполняет роль Р-фактора в системе РМ ГД.

*Работа поддержана грантом РФФИ 14-04-00929 и частично финансируется Новосибирским государственным университетом.*

### **Геногеографическое исследование популяции медоносной пчелы в Зилаирском районе Республики Башкортостан**

***Каскинова Миляуша Дамировна, Николенко А.Г.***

*Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Россия; Федеральное государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Башкирский Государственный Аграрный Университет», Уфа, Россия, kaskinovamilyausha@mail.ru*

Одним из условий сохранения аборигенных популяций пчел является установление их породы. Так как применение морфометрических методов было осложнено гибридизацией, им на смену пришли генетические методы. Целью настоящей работы являлось установление породной принадлежности пчелиных семей популяции Зилаирского района на основе полиморфизма локуса COI-COII митохондриальной ДНК, комбинация RQQ которого характеризует происхождение пчел от *Apis mellifera mellifera L.* по материнской линии.

Пробы пчел из 116 семей были собраны в период с 21 по 22 мая 2013 года в Зилаирском районе. Выделение ДНК проводили смесью гуанидинтиоцианат-фенол-хлороформ. ПЦР проводили в термоциклере “Циклотерм” в объеме 15 мкл с использованием следующих праймеров: F-5'-tggcagaataagtgcattgaa-3' и R-5'-cagcataatatgaattgattcttga-3'.

В результате анализа локуса COI-COII мы получили следующее: 50% пчелосемей Зилаирского района по материнской линии происходят от пчел среднерусской породы. При этом в д. Бердяшево (25 семей) и в д. Дмитриевка (20 семей) Зилаирского района проанализированные семьи происходят от подвида *Apis mellifera mellifera L.* с частотой 0,96 и 0,9 соответственно и могут быть использованы для распространения популяции.

Данная работа выполнена в лаборатории биохимии адаптивности насекомых Института биохимии и генетики УНЦ РАН.

### **Роль полиморфизма R559Q в гене PALB2 в генезе рака молочной железы среди пациентов из Республики Беларусь – наличие гаплотипа А/А как фактор риска**

***Кипень Вячеслав Николаевич, Снытков Евгений Владимирович, Мельнов Сергей Борисович***

*Международный государственный экологический университет им. А.Д. Сахарова, Минск, Республика Беларусь, slavakipen@rambler.ru*

Рак молочной железы (РМЖ) занимает ведущее место в структуре смертности от злокачественных новообразований в Республике Беларусь и затрагивает 23,7/100 тыс. женского

населения. Таким образом, поиск новых генетических маркеров для определения индивидуального риска развития РМЖ представляется весьма актуальной задачей. Ген *PALB2* является одним из ключевых регуляторов процессов гомологичной рекомбинации (принимает участие в репарации генетических повреждений). Роль полиморфизма R559Q (rs152451) в генезе РМЖ была продемонстрирована в ряде работ предыдущих лет. Нами была предпринята попытка оценить вклад данного полиморфизма в генез РМЖ у пациентов из Республики Беларусь.

В исследование были включены 156 пациентов с РМЖ и 123 условно здоровых пациента без онкологической патологии в анамнезе на момент забора крови (группа сравнения). Группа сравнения соответствует по возрасту и этническому составу выборке больных РМЖ. Все участники исследования дали информированное согласие на проведение молекулярно-генетических исследований. Использованные в исследовании методы: ПЦР, ПДРФ, ПААГ-электрофорез.

Частота распределения гаплотипов в группе пациентов с РМЖ: гаплотип AA был определен в 78,85% (123/156), AG – в 20,51% (32/156), GG – в 0,64% (1/156). Распределение частот гаплотипов в группе сравнения следующее: гаплотип AA выявлен в 64,23% (79/123), AG – в 34,96% (43/123), GG – 0,81% (1/123). Распределение аллелей с исследуемых выборок: 1) РМЖ – аллель А встречался в 89,11%, аллель G – в 10,89%; 2) группа сравнения – аллель А определен в 81,71%, аллель G – в 18,29%.

Таким образом, нами были выявлены статистически значимые различия по частотному распределению гаплотипов в группе пациентов с РМЖ относительно группы сравнения по полиморфизму R559Q в гене *PALB2* –  $p < 0,001$ ; также в отношении полиморфизма R559Q выявлены также статистически значимые различия и по частоте встречаемости аллелей – уровень значимости  $p < 0,01$ . Для анализа использовали критерии:  $\chi$ -квадрат, метод Монте-Карло.

Расчет отношения шансов (OR - odds ratio) позволил выделить гаплотипы высокого риска развития РМЖ ( $p < 0,005$ ) – A/A (OR – 2,00 [1,18-3,39]); протективный эффект может иметь гаплотип A/G (OR – 0,48 [0,28-0,82]).

Таким образом, генотипирование по полиморфизму R559Q в гене *PALB2* может быть использовано в качестве прогностического теста в превентивной персонифицированной медицине.

## **Поиск ассоциации генов холецистокининергической системы с мигренью**

***Кондратьева Наталья Сергеевна***

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия, natalia\_kondratieva@mail.ru*

Мигрень это мультифакториальное социально-значимое заболевание, затрагивающее периферическую и центральную нервные системы. Терапия пациентов с данным типом головной боли все еще не достаточно эффективна. На сегодняшний день предполагают, что пациенты с мигренью страдают от хронической дофаминергической гипофункции из-за отклонений в уровне дофамина, и мутаций генов, кодирующих ферменты биосинтеза дофамина. Холецистокинин (ХЦК) один из самых распространенных нейропептидов в организме, в ЦНС его основной функцией является регуляция круговорота дофамина. У человека ген холецистокинина, включающий 3 экзона, располагается в коротком плече третьей хромосомы. Замена -36С/Т располагается в промоторной области гена ССК. Исследования показали, что транзиция С на Т приводит к достоверному снижению транскрипционной

активности гена ССК. Ген *ССК2R* локализован на хромосоме 4 и состоит из 5 экзонов. Стоит обратить внимание на ко-локализацию гена *ССК2R* с геном рецептора дофамина D4, учитывая сосуществование дофаминергической и холецистокининергической систем в нейронах среднего мозга, а также регуляторную роль рецепторов ХЦК в функционировании мезолимбических дофаминергических путей.

Целью данного исследования явилось изучение частот встречаемости полиморфных вариантов генов *ССК(-36С/Т)* и *ССК2R(1550G/А и 109 С/Т)* на выборке пациентов из Москвы и Московской области, страдающих мигренью (n=175, образцы предоставлены отделом клинической неврологии ММА им. И.М. Сеченова и Университетской клиникой головных болей) и контрольной выборке (n=372, образцы предоставлены Институтом общей генетики им. Н.И. Вавилова). Работа проведена с использованием стандартных молекулярно-биологических (ПЦР-ПДРФ) и статистических методов.

В ходе исследования были получены следующие частоты аллелей у пациентов, страдающих мигренью: -36С:0,452±0,027, -36Т:0,548±0,027; 109С:0,842±0,02, 109Т:0,158±0,02; 1550G:0,920±0,015, 1550А:0,080±0,015; для образцов контрольной выборки: -36С:0,446±0,018, -36Т:0,554±0,018; 109С:0,949±0,008, 109Т:0,051±0,008; 1550G:0,901±0,011, 1550А:0,099±0,011.

Показано статистически достоверное увеличение частоты аллеля 109Т у пациентов, страдающих мигренью (p<0,0001). Частоты аллелей и генотипов других полиморфных вариантов статистически не отличаются в наших выборках. Нами были получены результаты, позволяющие предположить, что аллель 109Т гена рецептора холецистокинина оказывает влияние на патогенез мигрени.

### **Анализ экспрессии генов семейства *hpl* в линии *SS Drosophila melanogaster*, мутантной по локусу *flamenco***

***Лавренов Антон Русланович***

*Институт биологии развития имени Н. К. Кольцова РАН, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия, overtaki@mail.ru*

Мобильные генетические элементы представляют собой последовательности ДНК, способные перемещаться внутри генома. Высокая транспозиционная активность МГЭ опасна для организма, так как повышает частоту возникновения мутаций и нарушает экспрессию генов, и потому контролируется геномом хозяина. Существуют разные механизмы регуляции экспрессии МГЭ в геноме *D. melanogaster*. Подавление экспрессии МГЭ может осуществляться как путем РНК-интерференцией, так и непосредственной компактизацией участков хромосом, содержащих ДНК-копии МГЭ. Белки семейства *Hpl* принимают активное участие в формировании гетерохроматина и сайленсинге генов. Было показано, что *Hpl* также участвует в регуляции транспозиции некоторых МГЭ *D. melanogaster*, путем прямого связывания с МГЭ или через взаимодействие с ключевым участником процесса РНК-интерференции белком *PIWI*.

Лабораторная линия *SS* имеет мутантный фенотип *flamenco*, который характеризуется повышенной частотой транспозиции МГЭ. Не исключено, что данный фенотип вызван нарушением механизма подавления транспозиции, важную роль в котором играют белки семейства *Hpl*. Для проверки данного предположения, мы измерили экспрессию генов, кодирующих белки семейства *Hpl*, на уровне транскрипции в линиях *SS* и *D32* (отличаются генотипом *flamenco*) методом ОТ-ПЦР. В геноме *D. melanogaster* имеется 5 паралогов гена *hpl(hpla-e)*. Гены *hpla*, *hplb* и *hplc* транскрибируются во всех тканях, а транскрипты генов *hpld* и *hple* обнаруживаются исключительно в половых органах самок и самцов

соответственно, поэтому кДНК для анализа их экспрессии получали из РНК соответствующих органов (*hp1a*, *hp1b*, *hp1c* – корпусы, *hp1d* - яичники, *hp1e* - семенники).

В результате было выявлено небольшое снижение экспрессии гена *hp1d* (в 2-3раза) в мутантной линии SS относительно линии лабораторного дикого типа D32. Существенных отличий в экспрессии других генов обнаружено не было.

Полученные данные указывают на возможную роль гена *hp1d* в формировании генотипа *flamenco*.

### **Наследование четырёх типов окраски цветков у сафлора красильного *Carthamus tinctorius* Linnaeus, 1753**

**Леус Татьяна Викторовна**

*Институт масличных культур Национальной академии аграрных наук Украины, пос. Солнечный, Запорожская обл., Украина, tatiana\_leus@list.ru*

У сафлора красильного имеется четыре типа окраски цветков: красная, оранжевая, жёлтая и белая. Согласно Наркеде и Докар, 4 доминантных гена, *Y*, *O*, *R* и *C*, формируют жёлтую, оранжевую, красную и белую окраску венчика соответственно, однако данные других авторов их опровергают. Целью нашей работы было выяснение характера взаимодействия генов и наследования признака окраски цветков у сафлора.

Исследование проводилось в 2009-2013 годах на базе Института масличных культур НААН. В скрещиваниях участвовало 12 образцов коллекции, имеющих белую, жёлтую, оранжевую и красную окраску венчика.

При скрещивании растения с белыми цветками с растением, имеющим цветки другой окраски, белая окраска в  $F_1$  не проявлялась, а в  $F_2$  наблюдалась у 1/4 части потомства. У жёлтой окраски наблюдалось два варианта наследования. В первом случае при скрещивании растения с жёлтой окраской цветков с растением с иной окраской жёлтая окраска наблюдалась у гибридов  $F_1$ . В  $F_2$  она выщеплялась большим классом в соотношениях 3:1, 13:3, 12:3:1, 9:3:4, 36:9:3:16 и др. Во втором случае жёлтая окраска не наблюдалась в  $F_1$  и у родительских растений, а в  $F_2$  выщеплялась меньшим классом в разных соотношениях. Оранжевая окраска также в разных случаях могла выщепляться большим или меньшим классом. Красная окраска выщеплялась, как правило, меньшим классом. В двух случаях также наблюдалось расщепление 9:3:4 на красную, оранжевую и белую окраску соответственно.

Основываясь на полученных данных, мы составили схему взаимодействия генов при наследовании окраски у сафлора. Белая окраска наследуется по типу рецессивного эпистаза в случае наличия рецессивной гомозиготы по гену *Y*. За формирование красной окраски отвечает ген *R*. Гены *C* и *O* формируют жёлтую окраску. При этом ген *C* полностью подавляет действие остальных трёх генов, а ген *O* способен вступать во взаимодействие с геном *R* с формированием оранжевой окраски цветка.

### **Создание ДНК-маркеров для выявления эпиаллеля *nana* у *Arabidopsis thaliana***

**Мамошина Полина Олеговна**

*МГУ имени М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия, hmiriha@yandex.ru*

Анализировалась линия К-164, содержащая карликовые растения *na* (*nana*), из коллекции кафедры генетики МГУ модельного растения арабидопсис *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.. Карликовость мутантов *nana* стабильно наследуется при самоопылении как доминантная мутация, так же себя ведет при скрещивании с растениями рас En-M и Dj-M, однако при скрещивании с такими расами, как Col-M, Vla-M и Ws ведет себя как полудоминантная, в  $F_2$



поколении выявляется явный дефицит гетерозиготных растений и избыток растений с нормальным ростом побега, наблюдается родительский эффект( в F3 выявлена зависимость расщепления от высоты родительского растения из F2). Такие эффекты репрессии фенотипа на других расах свидетельствуют об эпигенетической модификации как природы карликовости.

С целью выявления эпиаллеля, вызывающего карликовость линии *papa*, были подобраны маркеры, сцепленные с ним. С помощью базы TAIR были подобраны маркеры PT15, PT14 и 086a и исследована способность выявлять полиморфизм в разных вариантах скрещивания. Установлено, что микросателлитный ДНК-маркер PT15 выявляет различия между *pa* и расами Enk-M, Vla-M, Dj-M, Leg. Используя этот маркер, исследовали соответствие между фенотипом и эпигенотипом. Установлено, что в F2 гетерозиготы по эпиаллели имеют карликовый фенотип при скрещивании с расой Enk-M, но фенотип дикого типа в F1 при скрещивании с Vl-M при прямом и обратном скрещивании, т.е независимо.

*Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 13-04-00122\_a).*

### **Анализ экспрессии генов *Grp* и *Iris* у имаго *Drosophila melanogaster* в ответ на различные стрессовые воздействия**

***Махновский Павел Александрович, Кузьмин И.В.***

*МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия, тахрауел@gmail.com*

Гены эндогенных ретровирусов и ДКП-ретротранспозонов, интегрированных в эукариотический геном, являются генетическим ресурсом для организма-хозяина. Эти последовательности могут претерпевать отбор и использоваться организмом для собственных нужд, т. е. подвергаться процессу молекулярной доместикации. У млекопитающих многие доместифицированные гены участвуют в работе механизмов врожденного иммунитета.

У дрозофилы известны два таких гена — *Grp* и *Iris* гомологичные ретровирусным генам *gag* и *env*, соответственно. Ранее нами было показано, что эти гены экспрессируются в тканях, являющихся барьером на пути инфекции. С помощью биоинформатических методов предсказана локализация белковых продуктов этих генов в клеточных мембранах. Мы предполагаем, что гены *Grp* и *Iris* участвуют в работе врожденного иммунитета дрозофил.

Для моделирования инфекции проводили инъекцию суспензии *E.coli* и *B.cereus* в PBS в полость тела взрослых мух линии D-32 (лабораторная линия дикого типа *D. melanogaster*). Также мухи подвергались голоданию в течение 4, 8 и 24 часов. Экспрессию генов *Grp* и *Iris* на уровне транскрипции оценивали методом ОТ-ПЦР.

В результате было выявлено повышение экспрессии гена *Grp* в несколько раз в ответ на инъекцию грамположительных бактерий (*B.cereus*) по сравнению с контролем (мухи, инъекцированные буфером PBS без бактерий). Также было обнаружено повышение экспрессии гена *Grp* у самок в 4 раза в ответ на голодание длительностью 8 часов. Для гена *Iris* не выявлено никаких изменений в экспрессии в ответ на исследованные воздействия.

Повышение экспрессии гена *Grp* в ответ на введение грамположительных бактерий *B.cereus* свидетельствует о регуляции экспрессии гена *Grp* под действием сигнального пути Toll, который активируется при инфекциях, вызванных грамположительными бактериями.

## Структура генофонда армянских популяций кавказской скальной ящерицы

### *Darevskia armeniaca*

<sup>1</sup>Омельченко Андрей Владимирович, <sup>2</sup>Гирнык Анастасия Евгеньевна,

<sup>2,3</sup>Вергун Андрей Александрович

<sup>1</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия, [omi@bk.ru](mailto:omi@bk.ru); <sup>2</sup>Институт биологии гена РАН, Москва, Россия, [vermand@mail.ru](mailto:vermand@mail.ru); <sup>3</sup>Московский педагогический государственный университет, Москва, Россия, [vermand@mail.ru](mailto:vermand@mail.ru)

*Darevskia armeniaca* (Méhely, 1909) – один из семи облигатно-партеногенетических видов ящериц рода *Darevskia*. Изучение генетической структуры армянских популяций данного вида интересно и важно для выяснения роли различных факторов (климатических, экологических, антропогенных и внутригеномных) во возникновении партеногенеза и поддержании его облигатного статуса, особенно в контексте интродукции и распространения популяций вида *D. armeniaca* на Украине – в условиях совершенно отличных от нативных.

Сбор биологических образцов (112 особей из 15 популяций), выделение ДНК и молекулярно-генетические процедуры проводились по стандартным методикам. Вклад популяций в генофонд вида оценивался на основании геномного маркирования особей всех популяций по 10 аллелям трёх полиморфных микросателлитных локусов генома с использованием ранее разработанной нами математической модели. Сравнение вкладов популяций проводилось методом дисперсионного анализа (ANOVA) в программе STASISTICA 7. Для этого методом bootstrap-анализа с 100 циклами формировались выборки для каждой популяции. Для конкретизации различий были применены post-hoc тесты по методу Тьюки. В качестве параметра генетического разнообразия популяций вычислялась гетерозиготность (наблюдаемая и ожидаемая), которая определялась по формуле Нея.

В результате установлено, что генофонд *D. armeniaca* в Армении представлен пятью уникальными генотипами, из которых один генотип у 95 особей есть во всех популяциях, а остальные являются минорными и имеют различное распределение по популяциям. В целом, популяции отличаются по вкладу в генофонд. Однако, конкретизация этих различий показывает их неодинаковую статистическую значимость. Так, наибольший вклад в генофонд вида вносит равнинная популяция Алаверды ( $6,73\% \pm 0,30$ ), которая статистически значимо отличается только от высокогорных популяций Кучак, Меградзор и Степанаван и неотличима от других популяций. В свою очередь, популяции Кучак, Меградзор и Степанаван вносят наименьший вклад в генофонд вида ( $6,51\% \pm 0,11$ ), статистически неотличимый друг от друга и значимо отличающийся от всех других популяций. Эти же популяции демонстрируют наивысшие уровни наблюдаемой гетерозиготности (Кучак –  $0,840 \pm 0,005$ ; Меградзор –  $0,843 \pm 0,003$ ; и Степанаван –  $0,842 \pm 0,003$ ). Популяция Кучак по этому параметру статистически значимо отличается от всех остальных популяций ( $p = 0,000026$ ). Популяции Меградзор и Степанаван неотличимы друг от друга ( $p = 0,17$ ) и значимо отличаются от других популяций ( $p = 0,000026$ ). Таким образом, показано, что генетические параметры популяций различны в зависимости от климатических и экологических факторов местообитания популяций.

Исследование поддержано грантами Президента РФ МК-2349.2014.4, НШ-2501.2014.4; программами Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология» и «Живые системы».

## **Филогенетический анализ генофонда искеро-тобольских татар**

### **по данным Y-хромосомы**

<sup>1,2</sup>Падюкова Асия Дамировна, <sup>3</sup>Теучеж И.Э., <sup>3,4</sup>Дибирова Х.Д., <sup>4</sup>Агджоян А.Т.

1 - Кемеровский государственный университет, каф. генетики, биологический факультет, Россия, Кемерово; 2 – Кемеровская Государственная Медицинская Академия, центральная научно-исследовательская лаборатория, Кемерово, Россия; 3 – «Медико-генетический научный центр» Российской академии медицинских наук, Москва; 4 – Институт общей генетики Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия, [enikeeva.as@rambler.ru](mailto:enikeeva.as@rambler.ru)

На территории Западной и Южной Сибири расположены этнические ареалы многих тюркоязычных народов, в том числе алтайцев, хакасов, тувинцев и сибирских татар. Генофонды сибирских татар и их положение в генетическом пространстве генофондов народов Евразии до настоящего времени практически не исследованы. Представляются результаты изучения особенностей популяционно-генетической структуры тоболо-иртышских искеро-тобольских татар Тюменской области по данным 17 STR маркеров Y-хромосомы.

Для 70 образцов искеро-тобольских татар был проведен анализ 17 STR маркеров Y-хромосомы, на их основе была проведена предикция (прогноз) гаплогрупп. В результате прогноза было 13 гаплогрупп. Особенностью популяции искеро-тобольских татар стал обширный спектр гаплогрупп и отсутствие мажорных гаплогрупп – ни одна из обнаруженных гаплогрупп не является преобладающей и «знаковой» для генофонда, изучаемых татар. Наиболее часто встречающиеся гаплогруппы – R1a-M198 и N1c-LLY22g. Из остальных 11 гаплогрупп наиболее частыми являются гаплогруппы Q-M242, H-M69, N1b-P43 и R2-M124.

Спектр и частоты прогнозируемых гаплогрупп у сибирских татар указывают на сходство их генофонда с другими тюркскими группами алтайской языковой семьи. В частности с народами Алтая-Саянского региона, включающего популяции шорцев, алтайцев и хакасов. Их генофонд характеризуется преобладанием западно-евразийской гаплогруппы R1a1a и северо-евразийских гаплогрупп N1b, N1c1 и Q. Однако соотношение этих гаплогрупп в каждой популяции значительно варьирует. Для проведения стандартного популяционно-генетического анализа (например, многомерного шкалирования) в будущем планируется провести генотипирование SNP маркеров Y-хромосомы, что позволит уже не прогнозировать, а определить точно гаплогрупп и субгаплогруппы.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке грантов РФФИ 13-06-00670 а, РФФИ 14-06-00272 а.*

### **Изучение генетического полиморфизма сосны сибирской южно-якутской популяции по микросателлитному анализу**

**Попов Евгений Николаевич**

*Северо-Восточный федеральный университет им. М.К. Аммосова, институт естественных наук, Якутск, Россия, [polard2007@yandex.ru](mailto:polard2007@yandex.ru)*

Морфофенотипическая структура популяций сосновых Сибири и Дальнего Востока, в частности, сосны обыкновенной (*P. sylvestris*), сосны сибирской (*P. sibirica*), лиственницы даурской (*L. gmelinii*) в двадцатом веке разносторонне изучена многими отечественными и зарубежными авторами. Между тем, генетическая структура, полиморфизм и эколого-географическая дифференциация сосновых Сибири и Дальнего Востока, особенно, в труднодоступных регионах Якутии, исследованы недостаточно полно. Сосна сибирская (*P. sibirica*) на территории Якутии в аспекте популяционной генетики и выявления морфофенотипической структуры изучена не полностью.

В настоящее время сложилась ситуация, когда традиционные подходы к изучению лесного богатства нашей страны уже не соответствуют современным требованиям. Научные основы мониторинга биоразнообразия и организация рациональной не истощительной эксплуатации лесных ресурсов требуют получения количественных оценок популяционно-генетических параметров, что возможно лишь на базе молекулярно-генетических маркеров. Изоферментные генные маркеры продолжают оставаться одним из главных инструментов изучения популяционно-генетической структуры, внутри- и межвидовой дифференциации и гибридизации древесных растений. Несмотря на развитие методов анализа изменчивости ДНК, во всем мире с помощью изоферментов до сих пор получают значительную долю информации о состоянии генофондов хвойных и других древесных растений.

В данной работе представлены результаты изучения уровня генетического полиморфизма сосны сибирской (*P. sibirica*) по микросателлитному анализу. Всего проанализировано 24 образца хвои собранных из двух разных популяций по микросателлитному анализу, 40 проб семенного материала (зародыш и эндосперм). Было проведено исследование полиморфизма *P. sibirica* по пяти локусам (*RPS-124*, *RPS-90*, *PTTX-2123*, *PTTX-2146*, *PICO*) с температурой обжига праймеров 55°C. Анализ показал, что по *RPS-124*, *RPS-90*, *PTTX-2123* уровень изменчивости не большой, деревья являются мономорфными, однако по *PTTX-2146* выявлен третий аллельный вариант, который характерен для кедрового стланика *P. pumila*, что говорит, о вероятности далекой гибридизации. Наибольший уровень генетического полиморфизма показывает аллель *PICO*, выявлено 4 формы быстрых аллелей. Тем самым можно прийти к выводу, что для сибирской сосны южно-якутской популяции (Олекминский район Якутии) характерна относительная мономорфность, а в отдельных ценопопуляциях (п. 2-Нерюктяйинск) имеется полиморфизм по *PICO* и *PTTX-2146*.

### **Выявление полиморфизма *ESR1-PvuII* методом HRM (High Resolution Melting) у свиньи домашней (*Sus Scrofa domestica*)**

**Романишко Елена Леонидовна**

ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», Минск, Республика Беларусь,  
[lenaramanishko@mail.ru](mailto:lenaramanishko@mail.ru)

Эстрогены – стероидные половые гормоны, способные регулировать рост, дифференцировку и функции различных клеток в тканях млекопитающих. Множественные эффекты эстрогенов осуществляются через эстрогеновые рецепторы (ESR), представленные в клетках-мишенях органов животных. В настоящее время широко известны два типа эстрогеновых рецепторов: ESR1 и ESR2, которые являются транскрипционными факторами, имеющими центры связывания с регуляторными участками ДНК (промоторами, энхансерами). Гены *ESR* локализованы в 1 хромосоме генома свиньи домашней (*Sus Scrofa domestica*). В качестве одного из локуса количественных признаков (QTL) в селекции свиней используют *ESR*. Для полиморфизма *ESR1-PvuII* найдена взаимосвязь с репродуктивными качествами свиней (масса гнезда при рождении, процент мертворожденных поросят и др.). Целью нашей работы явилось разработка экспресс метода выявления полиморфизма *ESR1-PvuII* для массового скрининга животных.

В качестве объекта исследования мы использовали свиней белорусской крупной белой породы. В нашем исследовании была проанализирована выборка животных (n=51) по гену эстрогенового рецептора *ESR1-PvuII*. Выделение ДНК проводили из проб ткани (ушной выщип) и цельной крови с помощью набора реагентов для выделения ДНК «Нуклеосорб» («Праймтех», Беларусь). Количество ДНК было нормализовано с помощью Qubit® 2.0 Fluorometer.

Для выявления полиморфизма *ESR1-PvuII* широко используется метод ПЦР-ПДРФ. Нами был применен метод HRM-анализа (High Resolution Melting). Подобраны реагенты и условия проведения ПЦР. Анализ результатов ПЦР проводили с помощью программного обеспечения для HRM-анализа на приборе CFX96 (BioRad, США). В результате исследуемые образцы образовывали три четких кластера соответствующие генотипам: AA, BB, AB. Деление на кластеры по результатам HRM анализа было подтверждено секвенированием. В результате нашего исследования установлено, что полиморфизм *ESR1-PvuII* включает две SNP 65A→G, 68T→G (GenBank HF947272.1) в 3 интроне гена *ESR1*. Определены частоты встречаемости аллелей и генотипов. Частота встречаемости: гомозиготного генотипом AA (SNP 65A, 68T) – 17,65%; гетерозиготного генотипа AB (SNP 65A/G, 68T/G) – 58,82% и гомозиготного генотипа BB (SNP 65G, 68G) – 23,53%.

Метод HRM анализа является быстрым и недорогим, что позволяет его использовать как экспресс метод для выявления полиморфизма *ESR1-PvuII* для массового скрининга животных в селекционно-племенной работе в свиноводстве.

### **Исследование особенностей генетической структуры субпопуляций тоболо-иртышских сибирских татар**

*Руденко Ирина Николаевна, Долинина Д.О., Падюкова А.Д.*

*ФГБОУ ВПО «Кемеровский государственный университет», г. Кемерово, Россия  
irichkarudenko@mail.ru*

Сибирские татары – коренное население западной Сибири. Территориально этнический ареал сибирских татар расположен в административных границах Новосибирской, Омской, Томской и Тюменской областей. Этнографы выделяют три основные группы сибирских татар: томскую, барабинскую и тоболо-иртышскую. Тоболо-иртышские татары, в свою очередь, объединяют ряд более мелких подгрупп: тюменско-туринскую, тобольскую, ясколбинскую, курдакско-саргатскую, тарскую и др. Генофонд сибирских татар до настоящего времени практически не исследован. Однако проблема этнической дифференциации и истории тюркоязычного населения Западно-Сибирской равнины требует всестороннего изучения, поэтому целью настоящей работы было исследование особенностей популяционно-генетической структуры тоболо-иртышских сибирских татар Тюменской области по данным классических генетических маркеров.

Проанализирован характер распределения классических генетических маркеров – АВ0, Rhesus (DCCeE), MN и Kell – в следующих субпопуляциях сибирских татар: тюменской (Тюменский район), ялуторовской (Ялуторовский район), иштыяско-тогузской (Вагайский район), искеро-тобольской (Вагайский и Тобольский районы) и ясколбинской (Тобольский район). Проведено типирование 431 образца венозной крови, из них у тюменских татар 98, у ялуторовских – 98, у иштыяско-тогузских – 75, у искеро-тобольских – 73, у ясколбинских – 87. Методом типирования эритроцитарных систем групп крови послужила агглютинация на плоскости с использованием цоликлонов НПО «Гемстандарт» (г. Москва). На основе результатов типирования рассчитывали аллельные частоты генов, по методу М. Нея (программа GDist) строили матрицы генетических расстояний между исследованными субпопуляциями, проиллюстрированные графиками многомерного шкалирования и дендрограммами (Statistica for Windows 8.0).

На первом этапе исследования оценивали сходство и отличие генетической структуры сибирских татар на уровне их локальных субпопуляций. Сравнительный анализ и результаты многомерного шкалирования демонстрируют относительное сходство генетической структуры

искеро-тобольской, ялutorовской и иштякско-тогузской субпопуляций, в то время как тюменская и ясколбинская субпопуляции от них дистанцируются. Максимальные усредненные генетические расстояния ( $d=0.032$ ) получены для субпопуляции тоболо-иртышских сибирских татар тюменской подгруппы.

На втором этапе список сравниваемых народов, с привлечением данных литературы, был увеличен до 17. Данные лингвистики и этнографии выявляют связи сибирских татар с народами Сибири (алтайцами, шорцами, тувинцами), Средней Азии (киргизами, казахами), западными тюрками (казанскими татарами, мишарями и башкирами) и другими народами. Полученные результаты, в целом, согласуются с данными литературы. На дендрограммах и графиках многомерного шкалирования субпопуляции сибирских татар объединяются в разных кластерах с хакасами, северными алтайцами и народами финно-угорской группы, демонстрируя сходство генетической структуры с теми или иными народами.

Таким образом, проведенное исследование свидетельствует о выраженном разнообразии популяционно-генетической структуры тоболо-иртышских сибирских татар Тюменской области. Популяции ясколбинских и тюменских тоболо-иртышских сибирских татар дистанцируются от других исследованных субпопуляций тоболо-иртышских сибирских, что свидетельствует об их значительном генетическом своеобразии.

*Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ проект №14-06-00272-а и №14-06-10020-к.*

### **Особенности экспрессии генов *TGFBI*, *PLA2G7* и *ACE* у детей с анафилаксией**

**<sup>1</sup>Саакян Екатерина Кареновна, <sup>2</sup>Есакова Наталья Владиславовна, <sup>1</sup>Кондратьева Наталья Сергеевна**

<sup>1</sup>МГУ имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия; <sup>2</sup>ФГБУ «Московский научно-исследовательский институт педиатрии и детской хирургии» Минздрава России, Москва, Россия, [saakiankatia@yandex.ru](mailto:saakiankatia@yandex.ru)

Анафилактический шок является смертельно опасным осложнением аллергии, возникающим очень быстро (через несколько минут после повторного введения аллергена) и не имеющим конкретно известной причины. Молекулярный механизм возникновения анафилаксии у человека не известен, в связи с чем, сложно предотвратить это осложнение у пациентов с аллергией. Изменение активности генов *TGFBI*, *PLA2G7* и *ACE* человека рассматривается как одна из составляющих механизма активации анафилаксии. Целью данной работы было определение особенности транскрипционной активности генов *TGFBI*, *PLA2G7* и *ACE* у пациентов с анафилаксией.

В исследование включено 34 пациента в возрасте от 8 месяцев до 18 лет с диагнозом анафилаксия (вне эпизода анафилаксии), группу сравнения составило 35 детей с диагнозом атопической дерматит, и 41 пациент вошел в группу контроля. Выделение РНК из цельной крови осуществлялось с использованием наборов Trizol RNA Prep (ООО «Лаборатория Изоген», Москва). Для получения кДНК использовался набор MMLV RT kit (ЗАО Евrogen, Москва). ПЦР в режиме реального времени проводилось на приборе CFX-96 (Bio-Rad, USA) с использованием смеси для ПЦР qPCRmix-HS (ЗАО Евrogen, Москва). Праймеры и зонды синтезированы ООО «ДНК-синтез» (Москва).

У пациентов с анафилаксией было показано статистически значимое уменьшение экспрессии гена *PLA2G7* ( $p<0,05$ ) относительно контроля, при этом отмечалась тенденция к потере экспрессии гена *PLA2G7* в исследуемой группе. Экспрессия гена *TGFBI* была достоверно ниже у детей с анафилаксией, по сравнению с экспрессией данного гена у

пациентов с атопическим дерматитом ( $p < 0,05$ ). В группе контроля экспрессия гена *ACE* была обнаружена у 71,40% детей. Для пациентов с анафилаксией по сравнению с контрольной группой наблюдалась достоверно меньшая частота обнаружения экспрессии гена *ACE*: 38,2% ( $p = 0,005$  по  $\phi$ -критерию Фишера).

Таким образом, для пациентов с анафилаксией характерно снижение транскрипционной активности генов *PLA2G7* и *ACE*. Это соотносится с литературными данными о том, что снижение активности ФАТ-ацетилгидролазы ведет к риску появления анафилаксии на мышинных моделях. Сниженная экспрессия *TGFBI* у детей с анафилаксией по сравнению с детьми с атопическим дерматитом, говорит о том, что экспрессия гена *TGFBI* влияет на развитие аллергической реакции, но не связана прямо с анафилаксией.

### **Анализ ассоциаций полиморфных маркеров генов факторов воспаления и системы оксида азота с инфарктом миокарда**

**Садикова Регина Ильгизовна**

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, г. Уфа, Россия, regina281210@yandex.ru*

Инфаркт миокарда — некроз (омертвление) сердечной мышцы в результате острой окклюзии коронарной артерии, вследствие тромбоза, развивающегося при повреждении (разрыве) нестабильной атеросклеротической бляшки. Важную роль в развитии и прогрессировании атеросклероза играет воспалительный процесс, включающий в себя активацию и пролиферацию эндотелиальных и гладкомышечных клеток, образование цитокинов и факторов роста, молекул адгезии и противовоспалительных медиаторов. Эндогенным ингибитором оксида азота является асимметричный диметиларгинин (АДМА), накоплению которого в плазме крови препятствует фермент диметиларгинин диметиламиногидролаза (DDAH). В связи с вышеизложенным, цель настоящего исследования состояла в изучении полиморфных маркеров rs668 (*Leu125Val*, ген *PECAM1*), rs3917010 (*c.928+420A>C*, ген *VCAM1*), rs1799983 (*E298D* ген *NOS3*), rs669173 (*c.303+30998A>G*, ген *DDAH1*), , rs35569394 (*-2549(18)I/D* ген *VEGFA*), rs1024611 (*-2518A>G* ген *CCL2*) как потенциальных предикторов ИМ.

Материалом исследования стали образцы ДНК 331 больных, перенёсших ИМ в возрасте до 55 лет (средний возраст  $\pm$  стандартное отклонение 44.39 $\pm$ 5.63). Диагноз ИМ устанавливался на базе Республиканского кардиологического диспансера г. Уфа. Группу сравнения составили 291 человека, лица в возрасте от 30 до 60 лет (42.54 $\pm$ 6.69) без клинических признаков сердечно-сосудистых заболеваний. Все участники исследования были мужчинами, русскими по этнической принадлежности.

Генотипирование проводили методом ПЦР с последующим ПДРФ анализом. Для по парного сравнения частот генотипов использовали двухсторонний тест Фишера. При анализе ассоциаций сочетаний аллелей/генотипов с ИМ применялась программа APSampler 3.6.0. Выявленные различия считались значимыми при значении FDR  $< 0.005$  (FDR – False Discovery Rate).

Из полученных результатов, следует, что в группе больных в отличие от контрольной группы значительно повышена частота генотипа *VCAM1*\*A/C ( $P = 0.051$ ), а в группе больных старше 45 лет повышен генотип *VEGFA*\*I/D ( $P = 0.001$ ). Установлено, что с пониженным риском ИМ ассоциирован генотип *PECAM1*\*L/L ( $P = 0.043$ ). С помощью алгоритма APSampler, нами проведён поиск сочетаний аллелей значимо ассоциированных с ИМ. Наиболее значимыми из них оказались два *VEGF1*\*I+ *CCL2*\*G+ *NOS3*\*E (OR=2.23), *VEGF1*\*I+ *VCAM1*\*A (OR=1.81).

Два варианта могут рассматриваться в качестве протективных это сочетание аллелей/генотипов *VEGF1*\*D/D+ *DDAH1*\*C (OR=0.48) и *VEGF1*\*D/D+ *PECAM1*\*L (OR=0.55).

Таким образом, по результатам нашего исследования можно сделать вывод о значительном вкладе полиморфных маркеров генов *CCL2*, *VEGF1*, *PECAM1*, *VCAM1*, *DDAH1*, *NOS3* в формирование наследственной предрасположенности к ИМ.

### **Влияние генов-маркеров на продуктивные качества сельскохозяйственных животных**

**Святогорова Александра Евгеньевна, Леонова Мария Анатольевна,  
Радюк Анастасия Владимировна**

*Донской государственный аграрный университет, п. Персиановский, Россия,  
sviatogorova.a@yandex.ru, m.leonovaa@mail.ru*

В настоящее время у сельскохозяйственных животных известен целый ряд генов-маркеров, представляющих интерес при селекции на воспроизводительные, откормочные и мясные качества. В качестве генов-маркеров рассматриваются гены, имеющие влияния на биохимические и физиологические процессы в организме, обладающие полиморфизмом обусловленным, как правило, точечной мутацией.

Одним из направлений наших исследований является изучение взаимосвязи полиморфизма гена *MUC4* с воспроизводительными качествами свиней. Ген *MUC4* расположен на 13 свиной хромосоме (*SSC13q41*) в пределах доверительного интервала QTL, связанного с количеством поросят при рождении и многоплодием.

Для коров в качестве перспективного гена рассматривается ген капа-казеина (*CSN3*), который обеспечивает оптимальные технологические свойства молока при производстве молочных продуктов. Ген каппа-казеина (*CSN3*) у КРС находится на 6-й хромосоме.

Цель данной работы определить взаимосвязь генов-маркеров с продуктивными качествами сельскохозяйственных животных. На основании полученных результатов выявить «желательные» генотипы для их дальнейшего закрепления в линии.

Исследования выполнялись на свиноматках породы ландрас в ЗАО «Племзавод-Юбилейный» Тюменской области и коровах голштинской породы в СПК «Колос» Ростовской области. Генетический анализ проводился методом ПЦР-ПДРФ.

Проведенный анализ воспроизводительных качеств показал, что свиноматки генотипа *CC* достоверно превосходили аналогов генотипа *GG* по количеству поросят при рождении на 0,7 гол. ( $P<0,001$ ), количеству живых поросят при рождении на 1,4 гол. ( $P<0,001$ ) и массе гнезда при рождении на 1,5 кг ( $P<0,001$ ).

У коров голштинской породы в качестве «желательного» установлен генотип *BB*, наличие которого связано с лучшим выходом творога из молока на 5,8 – 17,6% и высокой степенью использования жира и белка из молока.

В результате проведенных исследований были установлены «желательные» генотипы по гену *MUC4* для свиней породы ландрас и коров голштинской породы по гену *CSN3*, закрепление которых в популяции будет способствовать повышению продуктивных качеств животных и экономической рентабельности производства.



**Исследование модульных пептидных носителей, модифицированных сигналом ядерной локализации, для доставки ДНК в клетки**

<sup>1</sup>Слита Анна Александровна, <sup>1,2</sup>Богачева М.С., <sup>2</sup>Егорова А.А.

<sup>1</sup> – Санкт-Петербургский государственный университет; <sup>2</sup> – НИИ акушерства и гинекологии им. Отта РАН, Санкт-Петербург, Россия, ann.slita@gmail.com

Проблема направленной доставки генетических конструкций с целью получения белкового продукта, обладающего терапевтическим эффектом, до настоящего времени не решена и продолжает оставаться центральной проблемой генной терапии. Перспективным направлением разработки средств доставки ДНК является исследование невирусных носителей, обеспечивающих преодоление внутриклеточных барьеров транспорта. Для достижения специфичности доставки носители модифицируют лигандами к поверхностным рецепторам. Транспорт ДНК в ядро клетки достигается с помощью носителей содержащих сигнал ядерной локализации (СЯЛ). Цель данной работы – изучение модульных пептидных носителей, модифицированных лигандом хемокинового рецептора CXCR4 и СЯЛ большого Т-антигена вируса SV40, как средств доставки ДНК в клетки человека.

В работе исследованы: аналог аргинин-богатого носителя L0, носитель, модифицированный сигналом ядерной локализации – NL, их комбинации: NL1, содержащий 10mol% молекул с СЯЛ, NL2 – 50mol% и NL3 – 90mol%, так же носитель L1, содержащий N-концевую последовательность лиганда рецептора CXCR4, и его комбинацию с NL – NL5 (50mol% с лигандом). В качестве генетической конструкции использовалась плазида pCMVlacZ.

Степень конденсации ДНК оценивали методом вытеснения бромистого этидия из комплексов, эффективность комплексообразования оценивали при помощи ретардации в агарозном геле, для изучения стабильности ДНК в составе комплексов использовали тест на защиту ДНК от ДНКазы I, токсичность комплексов оценивали с помощью красителя Alamar Blue, эффективность трансфекции изучали на линии клеток HeLa, с использованием блокатора клеточного деления на стадии G1 гидроксимочевины, а также на первичной культуре мезенхимных стволовых клеток человека.

Проведенные эксперименты показали, что присоединение СЯЛ увеличивает ДНК-связывающую способность и ДНК-защитные свойства носителей NL1, NL2 и NL3. Так же было показано, что используемые комплексы не являются токсичными для клеток. Присутствие в носителе лиганда и СЯЛ приводило к увеличению трансфекционной активности комплексов, а так же способствовало трансфекции стволовых клеток. В присутствии гидроксимочевины эффективность трансфекции не снижалась, что свидетельствует о том, что комплексы проникают в ядро через ядерную пору. Таким образом, использование носителей, модифицированных СЯЛ и лигандом к рецептору CXCR4, является перспективным для разработки эффективных и специфичных средств доставки ДНК в клетки.

**Сравнение частоты встречаемости гаплотипов высокого и среднего риска по полиморфизму T1100T в гене PALB2 среди пациентов с раком молочной железы в Республике Беларусь с данными других исследований**

**Снытков Евгений Владимирович, Кипень Вячеслав Николаевич, Мельнов Сергей Борисович**

Международный государственный экологический университет им. А.Д. Сахарова, Минск, Республика Беларусь, slavakipen@rambler.ru

Рак молочной железы (PMЖ) занимает ведущее место в структуре смертности от злокачественных новообразований в Республике Беларусь (по данным «Статистики онкологических заболеваний» (Белорусский канцер-регистр, 2013 г.)) и составляет 23,7/100 тыс. женского населения. Ген *PALB2* является одним из ключевых регуляторов процессов гомологичной рекомбинации (принимает участие в репарации генетических повреждений). Роль полиморфизма T1100T (rs45516100) в генезе PMЖ была продемонстрирована в ряде работ предыдущих лет.

Нами была предпринята попытка сравнения полученных нами данных с результатами исследований, проводимых за рубежом – в частности, в рамках популяционных исследований ESP Cohort Populations (National Center for Biotechnology Information, USA <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). В исследование были включены 156 пациентов с PMЖ и 123 условно здоровых пациента без онкологической патологии в анамнезе на момент забора крови (группа сравнения). Группа сравнения соответствует по возрасту и этническому составу выборке больных PMЖ. Все участники исследования дали информированное согласие на проведение молекулярно-генетических исследований. Используемые в исследовании методы: ПЦР, ПДРФ, ПААГ-электрофорез.

Частота распределения гаплотипов в группе пациентов с PMЖ: гаплотип TT был определен в 94,23% (147/156), TG – в 4,49% (7/156), GG – в 1,28% (2/156). Распределение частот гаплотипов в группе сравнения следующее: гаплотип TT выявлен в 94,31% (116/123), TG – в 5,69% (7/123), гаплотип GG выявлен не был. Распределение аллелей в исследуемых выборках: 1) PMЖ – аллель T встречался в 96,47%, аллель G – в 3,53%; 2) в группе сравнения аллель T определен в 97,16%, аллель G – в 2,84%. Распределение гаплотипов по данным ESP Cohort Populations (n>4000) следующее: TT – 94,3%, TG – 5,5%, GG – 0,1%; частота встречаемости аллелей: T – 97,1%, G – 2,9%.

Статистический анализ проводили с помощью критерия  $\chi$ -квадрат и метода Монте-Карло. Статистически значимых различий между тремя анализируемыми выборками выявлено не было.

Таким образом, частота встречаемости гаплотипов в группе пациентов с PMЖ (n=156) не отличается от таковой во внутренней группе сравнения (n=123), а также от популяционных значений по данным ESP Cohort Populations.

### **Полиморфизм генов детоксикации ксенобиотиков в популяциях коренного населения Южной Сибири**

***Солопёкин Николай Валерьевич***

*ФГБОУ ВПО «Кемеровский государственный университет», г. Кемерово, Россия,*

*solopyokin@yandex.ru*

В настоящее время учащается неконтролируемая диссеминация ксенобиотиков антропогенного происхождения в среде обитания человека, что неблагоприятно воздействует на его популяцию, снижает показатели санитарно-эпидемиологического благополучия населения. Патологические процессы, развивающиеся при воздействии ксенобиотиков на организм, могут рассматриваться как проявление дезорганизации его функционального и структурного состояния, необходимого для нормальной жизнедеятельности. Степень токсического эффекта, зависит от токсичности вещества, других факторов внешней среды, и биологических особенностей человеческого организма.

Исследован полиморфизм генов детоксикации ксенобиотиков (*CYP1A1 Ile462Val*, *PON1 Gln192Arg*, *GSTP1 Ile105Val*, *GSTP1 Ala114Val*) в 11 популяциях коренного населения Южной

Сибири. Общий объем выборки составил 872 человека. Генотипирование полиморфизмов проводили методом ПЦР с использованием комплекта реагентов для амплификации «SNP-экспресс» (НПФ «Литех», г. Москва). Результаты оценивали при помощи электрофореза в агарозном геле. Для детекции использовали окраску гелей бромистым этидием с визуализацией ДНК в УФ-свете.

Сравнивая частоты аллелей, получили, что у шорцев ( $q=0.214$ ,  $p>0.05$ ), тубаларов ( $q=0.227$ ,  $p>0.05$ ) и сагайцев ( $q=0.229$ ,  $p>0.05$ ) частота аллеля *CYP1A1\*462Val* достоверно ниже, чем у кумандинцев и челканцев, а самая высокая частота данного аллеля наблюдается у качинцев ( $q=0.467$ ). У челканцев обнаружена самая низкая частота аллеля *GSTP1\*105Val* ( $q=0.192$ ) по сравнению с другими коренными народами Южной Сибири (тувинцами, теленгитами, алтай-кижи, качинцами, койбалами, сагайцами и шорцами). В исследованной популяции тоджинцев частота аллеля *GSTP1\*105Val* ( $q=0.467$ ), достоверно выше, чем у тувинцев ( $q=0.282$ ,  $p>0.05$ ). Следует отметить, что у тоджинцев частота аллеля *GSTP1\*114Val* ( $q=0.489$ ,  $p>0.05$ ) выше по сравнению с челканцами ( $q=0.192$ ,  $p>0.01$ ) и кумандинцами ( $q=0.276$ ,  $p>0.05$ ). По гену *PON1Gln192Arg* статистически достоверных различий среди обследованных народов не выявлено. Тем не менее, частота аллеля *PON1\*192Arg* выше у кумандинцев ( $q=0.507$ ) и тувинцев ( $q=0.516$ ), а ниже всего у челканцев ( $q=0.309$ ) и шорцев ( $q=0.391$ ).

Анализ уровня гетерозиготности в обследованных популяциях показал, что у тувинцев по гену *PON1 Gln192Arg* регистрируется самый высокий уровень наблюдаемой гетерозиготности ( $H_o=0.557$ ), а по гену *GSTP1 Ile105Val* самый низкий ( $H_o=0.202$ ) по сравнению с другими популяциями. Алтай-кижи характеризуются низким уровнем гетерозиготности по гену *PON1 Gln192Arg* ( $H_o=0.363$ ), кумандинцы по гену *CYP1A1 Ile462Val* ( $H_o=0.141$ ), а челканцы по гену *GSTP1 Ala114Val* ( $H_o=0.083$ ). Также у тубаларов и тоджинцев отмечается высокий уровень гетерозиготности по генам *GSTP1 Ile105Val*, *GSTP1 Ala114Val* ( $H_o=0.578$  и  $H_o=0.483$  соответственно). Таким образом, проведенное исследование выявляет различие в характере распределения генотипических частот по изученному комплексу генов биотрансформации ксенобиотиков. *Исследование проведено при поддержке гранта РФФИ проект № 13-06-98014 p\_сибирь\_a.*

### **Молекулярно-генетический анализ сортов яровой мягкой пшеницы с генетическим материалом пырея среднего**

**Старикова Елизавета Валентиновна**

*Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К. А. Тимирязева,  
Центр молекулярной биотехнологии, Москва, Россия, bobebobo@gmail.com*

Сорта яровой мягкой пшеницы Тулайковская 100 (селекции ГНУ Самарского НИИСХ, передан В.В.Сюковым) и Белянка (селекции ГНУ НИИСХ Юго-Востока, передан В.А.Крупновым) отличаются полной устойчивостью к листовой ржавчине и мучнистой росе. Устойчивость этих сортов к листовой ржавчине (*Puccinia recondita*) контролируется соответственно генами *LrAg* и *LrBel*, перенесёнными от пырея среднего *Thinopyrum intermedium* (Host) Barkworth & Dewey. Сиквенс этих генов, их природа и принцип работы неизвестны.

Целью работы являлось установление гомеологичной группы и субгеномной принадлежности генетического материала пырея среднего в геноме сортов Белянка и Тулайковская 100. Гомеологичная группа устанавливалась с помощью 14 ПЦР-маркеров PLUG с последующей рестрикцией и электрофорезом полученных фрагментов, субгеномная принадлежность – с помощью дифференциальной геномной гибридизации *in situ* (GISH) на

цитологических препаратах митоза с использованием меченой ДНК *Pseudoroegneria spicata* и ДНК пшеницы в качестве блока.

С помощью маркеров PLUG у исследуемых сортов было установлено отсутствие фрагментов, соответствующих хромосоме пшеницы 6D, и наличие фрагментов, соответствующих хромосоме *Th. intermedium* 6 гомеологичной группы.

С помощью дифференциальной GISH удалось установить, что исследуемые сорта имеют 40 хромосом пшеницы и 2 хромосомы пырея. При этом у обоих сортов хромосомы пырея несут сигнал в дистальных регионах, что позволило отнести их к J субгеному.

Таким образом нами показано, что сорта Тулайковская 100 и Беянка имеют замещение 6J(6D).

*Автор выражает благодарность за помощь в подготовке материалов тезисов к.б.н. М.Г. Дивашука.*

### **Структура генофонда митохондриальной ДНК хунну Забайкалья**

***Черданцев Степан Викторович***

*Новосибирский Государственный Университет, Факультет Естественных Наук,  
Новосибирск, Россия, chest.18-april@list.ru*

Народность хунну – древнее кочевое родоплеменное объединение, с III века до н. э. и до конца II века н. э. населявшее обширные области Центральной Азии и сильно повлиявшее на этногенетические процессы в Евразии. Работа посвящена исследованию структуры генофонда митохондриальной ДНК хунну Забайкалья – самой северной области их распространения. В процессе исследования были проанализированы останки 19 представителей рядового населения хунну из пяти археологических памятников, расположенных к юго-востоку от озера Байкал. Для 16 образцов была установлена структура ГВСI митохондриальной ДНК. В результате исследованной выборке выявлены линии шести гаплогрупп мтДНК: А, В, С, D, U2, U7. В результате проведенного филогеографического анализа в структуре генофонда митохондриальной ДНК были выявлены три компонента: к первому из них, наиболее многочисленному, относятся варианты гаплогрупп D, С, А. Эти гаплогруппы являются типичными для современного коренного населения Южной Сибири и Центральной Азии, в частности Забайкалья. Ко второму компоненту можно отнести две линии гаплогруппы В, относящиеся к подгруппам В4 и В5. Данные филогенетические кластеры являются наиболее характерными для популяций современного Китая и других территорий Юго-Восточной Азии. Третий компонент формируют линии западно-евразийских гаплогрупп U2 и U7. Предполагаемым местом возникновения и диверсификации этих гаплогрупп является территория Передней Азии и Ближнего Востока. Таким образом, присутствие в генофонде хунну Забайкалья групп вариантов мтДНК, филогенетически контрастных по отношению к центрально-азиатским, указывает на генетические контакты хунну с населением удаленных от Забайкалья территорий и высокую мобильность населения в пределах империи хунну.