

С.К. Абилев, М.В. Марсова

ОТБОР И АНАЛИЗ ГЕНОМОВ ШТАММОВ ЛАКТОБАЦИЛЛ, ОБЛАДАЮЩИХ ВЫСОКОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

*Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской
академии наук
Россия, 119991, г. Москва, ул. Губкина, 3
e-mail: abilev@vigg.ru*

Известно, что пробиотические штаммы оказывают благотворное воздействие на состояние слизистой желудочно-кишечного тракта онкологически больных в период применения химио- и лучевой терапии и могут применяться в комплексной терапии наряду с уже существующими препаратами. Терапевтическое действие пробиотиков на слизистую обусловлено продукцией ими комплекса биологически активных веществ, в том числе антиоксидантов.

Для исследования антиоксидантной активности культуральных жидкостей 72 штаммов пяти видов – *L.rhamnosus*, *L.fermentum*, *L.plantarum*, *L.casei/paracasei* и *L.brevis* рода *Lactobacillus* – нами были использованы тест-системы на основе штаммов *E.coli* MG1655, несущих плазмиду с генетической конструкцией, включающей слитые с промоторами генов каталазы (*pKatG*) и супероксиддисмутазы (*pSoxS*) *lux*-гены. Штамм *E.coli* MG1655(*pKatG*) люминесцирует в присутствии в среде перекиси водорода, *E.coli* MG1655 (*pSoxS*) – в присутствии параквата, индуцирующего образования в клетке супероксид аниона.

В результате скрининга культуральных жидкостей лактобацилл на способность подавлять люминесценцию тест-штаммов, индуцированную перекисью водорода и паракватом, были отобраны штаммы, обладающие высоким уровнем активности по отношению к использованным индукторам окислительного стресса. Наибольшую антиоксидантную активность в обеих тест-системах показали 4 штамма (*L.plantarum* 90sk, *L.brevis* 40f, *L.rhamnosus* GG и *L.rhamnosus* 72zv). Проведено секвенирование ДНК штамма *L.brevis* 47f (GenBank accession number LBHR000000000) и показано наличие в его геноме генов, детерминирующих биосинтез таких антиоксидантов, как глутатион, тиоредоксин и каталаза. Обнаружено, что штамм *L.brevis*

47f содержит ген, кодирующий только один из 2-х белков, необходимых для синтеза GHS (*ghsA*) и, вероятно, не способен к его синтезу *de novo*. Наличие у этого штамма генов, кодирующих белки CydCD, осуществляющие импорт GHS в клетку из окружающей среды, а также генов глутатион-пероксидазы и глутатион-редуктазы позволяет предположить, что штамм способен использовать доступный глутатион как антиоксидант. Тиоредоксиновая система представлена 4 генами тиоредоксина, геном тиоредоксин-редуктазы и 2-мя генами тироксиредоксина. Проведены исследования влияния отобранных штаммов лактобацилл на продолжительность жизни почвенной свободноживущей нематоды *Caenorhabditis elegans* в жидкой среде в присутствии параквата как оксиданта. Показано влияние определенных штаммов лактобацилл на продолжительность жизни нематод в жидкой среде в условиях окислительного стресса.

**В.С. Анохина¹, Г.А. Дебелый², П.М. Конорев³,
И.Ю. Романчук¹**

**БИОХИМИЧЕСКАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-
ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБРАЗЦОВ
ЛЮПИНА УЗКОЛИСТНОГО СЕЛЕКЦИИ ВНИИ
«НЕМЧИНОВКА»**

*¹Белорусский государственный университет
Республика Беларусь, 220030, г. Минск, пр. Независимости, 4*

²ФГНБУ Московский НИИСХ «Немчиновка»

Российская Федерация, 143026, Московская обл.,

Одинцовский р-н, пос. Новоивановское, 1

³РГАУ – МСХА им. К.А. Тимирязева

Российская Федерация, 127550, Москва, ул. Тимирязевская, 49

e-mail: anokhina@tut.by

Приоритетные направления селекции люпина сегодня связаны с созданием высокопродуктивных, скороспелых сортов с низким содержанием алкалоидов в случае кормовых и пищевых направлений использования и устойчивых к грибным болезням. Поиск источников резистентности у генотипов люпина к различным заболеваниям становится более эффективным с разработкой молекулярно-генетических маркеров.

Нами проанализированы образцы селекции Республики Беларусь и Российской Федерации, успешно прошедшие конкурсное сортоиспытание, по содержанию алкалоидов в семенах и антракнозоустойчивости с применением праймеров AnMap и AnSeq 3 и 4, разработанных в рамках австралийской программы селекции люпина.

У изученных образцов выявлен полиморфизм по содержанию алкалоидов в семенах – от практически безалкалоидных форм (0,025% алкалоидов и менее) – Деко, Дикаф 14, Брянский 9/10, Кристалл, Брянский 65, Смена, Фазан – до высокоалкалоидных – Денлад (0,25% алкалоидов в сухой массе семян). Алкалоидность образцов 64/09 и Ладный достигала 0,036% и 0,032%, соответственно, что позволило отнести их к кормовым формам.

Показано, что аллель устойчивости к антракнозу по праймеру AnMap присутствует лишь у образца 64/09. Данные анализа антракнозорезистентности по праймерам AnSeq 3 и 4 указывают на присутствие аллеля устойчивости AnSeq 3 у образцов Денлад,

Смена, Ладный, Дикаф-14, 64/09 и аллеля AnSeq 4 у образцов Фазан, Брянский 65 и 64/09.

Оба аллеля восприимчивости к антракнозу по праймерам AnSeq 3и 4, а также по праймеру AnMan были выявлены в ходе исследований у образца Брянский 9/10. Наличие всех аллелей устойчивости по трем изученным праймерам было характерно для образца 64/09. Принимая во внимание невысокое содержание алкалоидов в семенах этой формы и присутствие аллелей резистентности к антракнозу по всем изученным праймерам, был сделан вывод о ценности ее для дальнейшего использования в селекции в качестве источника низкого содержания алкалоидов и устойчивости к антракнозу. Прямой зависимости между содержанием алкалоидов в семенах и устойчивости к антракнозу нами не отмечено.

Полученная информация позволяет заключить, что образцы, геномы которых содержат аллели антракнозоустойчивости, могут быть использованы для гибридизации в качестве родителей-источников аллелей резистентности, а учитывая высокие результаты конкурсного сортоиспытания и данные этого эксперимента, отдельные из них могут быть переданы для производственного сортоиспытания.

Н.Н. Антоненкова¹, М.В. Малько², Н.М. Пашкевич¹

**ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ
ГЛИАЛЬНЫМИ ОПУХОЛЯМИ ГОЛОВНОГО МОЗГА
РОДСТВЕННИКОВ ПЕРВОЙ СТЕПЕНИ РОДСТВА
ПРОБАНДОВ С УСТАНОВЛЕННЫМ ДИАГНОЗОМ
ГЛИОМЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА**

¹РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им.

Н.Н. Александрова

Республика Беларусь, 223040, Минский р-н, аг. Лесной

e-mail: n.antonenkova@omr.med.by

²Институт энергетики НАН Беларуси

Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 15,

корп. 2

e-mail: mikhailvm@bas-net.by

Исследования, выполненные специалистами различных стран (Wrensch M. et al., (1997), Malmer B. et al., (2006) и др.), показали, что риск заболеваемости злокачественными новообразованиями головного мозга и центральной нервной системы, а также меланомы и саркомы существенно выше у родственников первой степени родства пробандов с установленным диагнозом глиомы головного мозга, чем популяционный риск этого заболевания. Данное обстоятельство свидетельствует о наличии генетической компоненты внутричерепных злокачественных новообразований головного мозга и указывает на то, что родственники пациентов с глиомой головного мозга представляют группу повышенного риска в отношении злокачественных новообразований мозга, меланомы и сарком.

Исследования такого повышенного риска имеют исключительное значение для диагностики, планирования лечения и прогнозирования исхода лечения перечисленных заболеваний у родственников пробандов, у которых обнаружены злокачественные новообразования мозга. Такая работа целенаправленно проводится в ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова». Предварительные результаты оценки риска заболеваемости глиомой мозга у родственников первой степени родства пробандов, страдающих злокачественными глиальными опухолями головного мозга, излагаются ниже.

Изучена заболеваемость злокачественными новообразованиями у родственников первой степени родства 213 пробандов с установленным диагнозом глиомы головного мозга. Эта группа пробандов включала 85 лиц мужского пола (39,9%) и 128 лиц женского пола (60,1%). Все они имели гистологическое подтверждение диагноза злокачественной глиомы мозга. Общее число родственников первой степени родства для этой группы пробандов составило 1012 человек или приблизительно по 5 человек на одного пробанда. В группу родственников первой степени родства были включены родители пробанда, родные братья и сестры, а также дети пробанда. Эта группа включала 502 родственника мужского пола и 510 родственников женского пола.

Заболеваемость злокачественными глиальными опухолями головного мозга в группе родственников первой степени родства пробандов с глиомой мозга изучена с использованием анкетирования пробандов. Установлено, что по состоянию на конец 2015 года в группе родственников первой степени родства зарегистрировано 68 злокачественных новообразований, в том числе 6 случаев злокачественных глиальных опухолей головного мозга. Число ожидаемых случаев злокачественных новообразований мозга в группе родственников составило 1,675. Оно было рассчитано на основе показателей заболеваемости злокачественными новообразованиями головного мозга популяции Беларуси в 1941-2015 годах при использовании следующего метода. Во-первых, для каждого года указанного периода времени рассчитывалось число ожидаемых случаев злокачественных новообразований для группы родственников, включающей 1012 человек. Суммирование определенных таким образом случаев ожидаемого злокачественного новообразования определило число ожидаемых раков, равное 2 случаям. Во-вторых, в расчете ожидаемых случаев злокачественных новообразований было принято, что группа родственников непрерывно возрастала от 5 человек в 1941 году до 1012 человек в 2015 году. Этот метод позволил получить в качестве числа ожидаемых новообразований 1,35 случая. Среднее число ожидаемых случаев злокачественных новообразований головного мозга у рассматриваемых родственников первой степени составило 1,675.

Использование последней величины и числа зарегистрированных злокачественных новообразований дает значение стандартизованной заболеваемости злокачественными новообразованиями головного мозга у родственников первой степени

родства, равное 3,58 (ДИ от 1,31 до 13,1), что согласуется с результатами исследования американских и шведских специалистов (Scheurer M.et al., 2010).

Результаты данного исследования позволяют определить генетическую компоненту в заболеваемости злокачественными новообразованиями головного мозга у родственников первой степени родства пробандов, страдающих злокачественными глиомами головного мозга. Она определяется как отношение разности числа зарегистрированных и ожидаемых злокачественных новообразований к числу зарегистрированных случаев и составляет в обсуждаемом случае 0,72 (72%). Данная величина свидетельствует о том, что, вероятно, имеется общая генетическая причина заболеваемости злокачественными опухолями головного мозга пробандов и, по крайней мере, их родственников первой степени родства.

О.Г. Бабак¹, И.Г. Пугачева², Н.А. Некрашевич¹,
Н.В. Анисимова¹, А.М. Добродькин², И.Е. Зайцева²,
М.М. Добродькин², А.В. Кильчевский¹

СОЗДАНИЕ ГИБРИДОВ ТОМАТА С КОМПЛЕКСОМ ГЕНОВ КАЧЕСТВА И УСТОЙЧИВОСТИ

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: babak_olga@mail.ru

²Белорусская государственная сельскохозяйственная академия
Республика Беларусь, 213407, г. Горки, ул. Мичурина, 5

Селекция на комбинирование в гибридах томата генов качества и устойчивости – это актуальное направление современных исследований. Привлечение молекулярных маркеров для быстрого и надежного скрининга большого объема селекционного материала, наряду с традиционными подходами, позволяет решать поставленную задачу в более сжатые сроки.

В рамках ранее проведенных исследований создан ценный селекционный материал с генами удлиненного периода созревания (*nor*, *rin*, *nor^A*), повышенного накопления каротиноидов различных форм (*B*, *og^c*, *hp2^{dg}*, *gf-3*, *t*) и устойчивости к заболеваниям (*I-2*, *Mi 1.2*, *Cf-4*, *Cf-5*, *Cf-9*).

Целью дальнейшего этапа работ стало совмещение одного аллеля длительного созревания плодов, двух аллелей структурного (определяющего форму *-B*, *og^c*, *t*) и регуляторного (повышенное накопление – *hp2^{dg}*, *gf-3*) каротиноидов, с аллелями устойчивости к болезням в одном генотипе. Для реализации намеченной цели были разработаны три схемы гибридизации с привлечением в скрещивания родительских форм с различными ценными аллелями, созданы гибриды F₁.

В 2015 году получено 20 гибридов F₁ с сочетанием одного аллеля длительного созревания плодов (*nor^A*), двух генов качества (*B*, *hp2^{dg}*) и генов устойчивости к мелойдогинозу (*Mi 1.2*) и кладоспориозу (*Cf-5*). Проведены испытания по комплексу хозяйственно-ценных признаков в условиях защищенного грунта, выделены 8 гибридов с максимальными значениями признаков урожайности.

В 2016 году создано 48 гибридов F_1 по двум схемам топкросса с аллелями, удлиняющими период сохранности плодов (*nor*, *nor^A*, *rin*), контролирующими накопление каротиноидов различных форм (*B*, *og^c*, *t*, *gf-3*, *hp2^{dg}*) и обуславливающими устойчивость томата к ряду заболеваний: фузариоз (*I-2*), мелойдогиноз (*Mi 1.2*), кладоспориоз (*Cf-5*, *Cf-4*).

В текущем году продолжаются испытания 56 гибридов F_1 и родительских форм в условиях защищенного грунта по комплексу хозяйственно-ценных признаков. Проводится оценка признаков урожайности, анализ биохимического состава плодов, оценка устойчивости в полевых условиях. Выделены десять гибридных комбинаций, достоверно превышающих стандарт Старт F_1 по ранней урожайности на 24,05-119,3%.

По результатам двухлетних испытаний лучшие гибриды F_1 будут переданы в систему Государственного сортоиспытания Республики Беларусь.

О.Г. Бабак¹, Е.К. Шематорова², С.Г. Спивак³,
И.Н.Бердичевец⁴, Д.Г. Шпаковский², С.В. Кубрак¹,
В.Н. Клыков², И.Ю. Словохотов², А.В. Аралов²,
А.В.Кильчевский¹, М.Р. Халилуев⁵, Г.В. Шпаковский²

**КЛЮЧЕВОЙ ФЕРМЕНТ СТЕРОИДОГЕНЕЗА
ЖИВОТНЫХ МОЖЕТ ФУНКЦИОНИРОВАТЬ
В РАСТЕНИЯХ, ПОВЫШАЯ ИХ
СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТЬ И УСКОРЯЯ
ПРОЦЕССЫ РОСТА И РАЗВИТИЯ**

¹*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая 27
e-mail: babak_olga@mail.ru*

²*Институт биоорганической химии имени академиков М.М.
Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН
Россия, 117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая 16/10
e-mail: gvs@ibch.ru*

³*Белорусский государственный медицинский университет
Республика Беларусь, 220116, г. Минск, пр. Дзержинского, 83*

⁴*Институт физиологии растений имени К.А. Тимирязева РАН
Россия, 127276, г. Москва, ул. Ботаническая, 35*

⁵*Российский государственный аграрный университет – МСХА
имени К.А. Тимирязева
Россия, 127550, г. Москва, Тимирязевская ул., 49*

В отличие от животных и дрожжей, у которых практически единственными стероидными липидами являются соответственно холестерин и эргостерин, в растениях присутствуют по крайней мере четыре вида фитостерина: β -ситостерин, кампестерин, стигмастерин и холестерин. Начальные стадии биосинтеза стероидных гормонов у животных происходят в митохондриях стероидогенных тканей, где цитохром P450_{sc} (side chain cleaving), кодируемый геном *CYP11A1*, катализирует превращение холестерина в прегненолон – общий предшественник всех стероидных гормонов, начиная с прогестерона. Этот этап биогенеза стероидов отсутствует в растениях, у которых гены, кодирующие митохондриальные цитохромы P450 (клан ‘mito CYP’), до сих пор не обнаружены. Вместо этого, от кампестерина ведёт своё

начало путь биосинтеза брассиностероидов – фитогормонов, которые участвуют в регуляции роста и развития растений. В то же время, недавно у различных видов растений был обнаружен целый ряд стероидных гормонов животных (прегненолон сульфат, прогестерон, 17-гидроксипрогестерон, 16-дегидропрогестерон, андростендион), мембранные рецепторы прогестерона, а также гомологи белков, ответственных за доставку холестерина в митохондрии клеток животных.

Для более детального сравнения стероидогенных систем *Plantae* и *Animalia*, мы впервые получили и исследовали линии трансгенных растений табака и томата, эффективно экспрессирующих кДНК *CYP11A1* млекопитающих. Детальная фенотипическая характеристика четырёх поколений этих растений показала, что трансгенные растения табака по сравнению с растениями дикого типа или растениями, содержащими только пустой вектор, характеризовались сокращённым периодом вегетативного развития (раннее начало цветения и созревания коробочек), увеличением биомассы и повышением урожайности (количества и качества семян). Кроме того, трансгенные растения табака, с *CYP11A1* проявляют устойчивость к таким грибковым патогенам, как *Botrytis cinerea*. Эти два интересных и ценных фенотипа проявились в двух чётко различающихся трансгенных линиях томата, экспрессирующих кДНК *CYP11A1*: одна линия (№ 4) характеризуется ускоренными темпами развития, а другая (№ 7) имеет повышенную невосприимчивость к абиотическим и биотическим стрессам.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского (РФФИ, проект № 16-54-00227) и Белорусского республиканского (БРФФИ, проект № Б16Р-129) фондов фундаментальных исследований.

О.Ю. Баранов

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ
СКРИНИНГ ЛОКУСОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ
С УСТОЙЧИВОСТЬЮ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ
К ФИТОПАТОГЕННЫМ ГРИБАМ**

*Институт леса НАН Беларуси
Республика Беларусь, 246001, г. Гомель, ул. Пролетарская, 71
e-mail: betula-belarus@mail.ru*

Одними из факторов, негативно влияющих на воспроизводство, состояние, продуктивность и устойчивость лесных древостоев, являются инфекционные заболевания, из которых около 96% обусловлено фитопатогенными грибами. В 2016 году в лесном фонде Беларуси площадь очагов болезней леса составила порядка 160 тыс. га. Кроме взрослых древостоев, значительный вред болезни наносят и при выращивании посадочного материала в лесных питомниках.

Среди основных приоритетных направлений в лесохозяйственной деятельности, обеспечивающих снижение числа и площади возникающих очагов заболеваний, а также минимизацию ущерба наносимых болезнями, можно выделить следующие: совершенствование технологий лесозащиты (включая элементы мониторинга, диагностики, проведение защитных мероприятий, разработки и применения новых биоцидных препаратов), актуализация и оптимизация существующих принципов и подходов в лесоведении и лесоводстве, и генетико-селекционные исследования в области повышения биологической устойчивости древесных растений к абиотическим и биотическим факторам среды.

В настоящее время в фитопатологии выделяют два типа устойчивости растений: вертикальную (специфическую) и горизонтальную (неспецифическую). В большинстве случаев выявляемая устойчивость лесобразующих древесных видов является горизонтальной, детерминирована значительным числом генов и обусловлена эволюционно сложившимися комплексными механизмами взаимодействия в системе «хозяин-паразит». Поскольку данные механизмы зачастую являются неспецифическими и общими по отношению к различным группам фитопатогенов – в данном контексте на первое место выступает физиологический статус растения или его отдельных частей.

Использование различных параметров физиологического статуса растений в качестве фенотипических признаков показало, что для различных популяций коэффициент наследуемости мог варьировать в существенной степени, что с одной стороны указывает на значительное влияние на них условий внешней среды (климатические и почвенные факторы), а с другой стороны свидетельствует о наличии определенного доминирующего генетического профиля, характеризующего индивидуальность той или иной популяции, и являющуюся результатом филогенетических преобразований.

Среди различных индукторов устойчивости, наиболее перспективными рассматриваются химические, для большинства из которых описаны как основные метаболические аспекты, так и установлены генетические детерминанты.

В данной работе рассмотрены локусы ассоциированные с салицилатным путем (системная приобретенная устойчивость) и жасмонатным путем (индуцированная системная устойчивость). Предметом исследований выступает генетический полиморфизм, уровень копийности и экспрессионный профиль для различных патогенетических состояний, выявляемых у древесных растений. Вторым моментом является сопоставление данных по уровню генетической дифференциации среди различных (по степени устойчивости к патогенам) форм и генотипов древесных видов.

З.Р. Бисултанова, З.И. Бисултанова, П.М. Джамбетова

**О РОЛИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА РЕЦЕПТОРА
НОРАДРЕНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ *ADRA2A*
В ФОРМИРОВАНИИ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ
РАЗЛИЧИЙ**

*Чеченский государственный университет
Россия, Чеченская республика, 364061, г. Грозный,
ул. А. Шерипова, 32
e-mail: petimat-lg@rambler.ru*

Черты и характер личности формируются в ходе индивидуального развития в результате сложного взаимодействия генотипа с факторами среды. Как было отмечено А. Анастаси, наследственность определяет границы поведения, внутри которых процесс формирования личности зависит от его внешней среды. Предполагается, что работа нейромедиаторных систем головного мозга влияет на формирование индивидуальных черт личности, что, в свою очередь, обуславливает интерес к изучению вклада генов, вовлеченных в нейромедиаторные метаболические пути. Кроме того, поведение человека регулируется нейропептидами и половыми гормонами, в связи с чем изучение генов-детерминантов представляет большой интерес в поиске ассоциаций с определенными чертами личности. Исследования в традиционных культурах позволят выявить генетические маркеры индивидуальных различий и определить характер распределения частоты аллелей генов-маркеров поведения в популяциях с традиционно сложившейся культурой.

Цель исследования: оценка вклада полиморфизма гена рецептора норадренергической системы *ADRA2A* в формирование индивидуальных различий у студентов Чеченского государственного университета (ЧГУ). Для оценки черт темперамента и личности студентов было проведено тестирование с использованием личностного опросника Айзенка и С.Р.Клонинджера (ТС1-125). Для оценки родительского воспитания в становлении личности использовали тест, разработанный Паркером (Parental Bonding Instrument, PBI). Анализ ген-средовых взаимодействий осуществлялся с учетом половой принадлежности, национальности, месяца и очередности рождения.

В результате генотипирования аллельных вариантов по полиморфному локусу гена адренорецептора *ADRA2A* C1291G в общей выборке (n=370) отмечалась высокая частота носительства минорного аллеля G – 54%. Данные ассоциативного исследования аллельных форм гена *ADRA2A* по полиморфному варианту C1291G и черт характера и темперамента личности, полученных по данным обработки тестов, продемонстрировали вовлеченность полиморфного варианта гена адренорецептора *ADRA2A* C1291G в индивидуальные различия по шкале «нейротизм» у лиц чеченской национальности в зависимости от половой принадлежности, и в зависимости от времени рождения по шкале «настойчивость». Комплексная оценка взаимодействия генетических и средовых факторов показала, что у гетерозиготных носителей минорного аллеля CG полиморфного локуса C1291G гена *ADRA2A*, родившихся в весенне-летний период, показатели по шкале «поиск новизны» ниже по сравнению с таковыми у студентов, родившихся осенью или зимой. У девушек наблюдалось тенденция к увеличению показателей «нейротизма» при наличии аллеля *ADRA2A* *G полиморфного локуса -1291C>G. Кроме того, носительство аллеля *ADRA2A**G полиморфного локуса -1291C>G-с коррелировало у студентов ЧГУ с низкими показателями по шкале «настойчивость».

Результаты расширяют представления о молекулярно-генетических механизмах формирования личностных черт и могут использоваться для разработки подходов к изучению личностных расстройств и разработки мероприятий для оказания психологической помощи индивидам, находящимся в группе риска по генетическим и средовым факторам.

З.И. Бисултанова, П.М. Джамбетова

**ПОПУЛЯЦИОННЫЕ РАЗЛИЧИЯ
В РАСПРЕДЕЛЕНИИ МУТАЦИЙ В ГЕНАХ *VLM*,
CNEK2 У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

*Чеченский государственный университет
Россия, Чеченская Республика, 364061, г. Грозный,
ул. А. Шерипова, 32
e-mail: petimat-lg@rambler.ru*

Рак молочной железы в настоящее время продолжает занимать первые строки в статистике онкозаболеваний у женщин. Применяемые скрининговые программы не обеспечивают снижения частоты образования опухолей молочных желез. Вероятно, необходимы совершенно новые подходы к выявлению причин злокачественного перерождения клеток, среди которых генетические мутации занимают существенные позиции. Результаты популяционных исследований генетических предиктов образования опухолей груди показывают, что встречаемость мутаций в разных популяциях различна, а для некоторых мутаций прослеживается эффект основателя (founder effect). Исследований, посвященных изучению роли генетических нарушений в развитии РМЖ за исключением *BRCA1/2*, в российских популяциях проведено немного, в основном исследованиями охвачены Волго-Уральский регион, Московская область и ряд других. Тем не менее, подобные исследования могут представлять несомненный научно-практический интерес, учитывая гетерогенность существующих на территории России популяций. Особое место в этом плане занимают северокавказские популяции, так как локальные этнические группы, проживающие на Северном Кавказе, в настоящее время, все еще сохраняют достаточно выраженную генетическую подразделенность и своеобразие генофондов. Подтверждением этому служат результаты проведенных ранее исследований по изучению роли генов *BRCA1* и *BRCA2* в популяциях адыгов, кабардино-балкарцев, чеченцев. Анализ ассоциаций среднепеннентрантных генов с раком молочных желез в чеченской популяции также выявил интересные тенденции во вкладе известных генов в образование злокачественных опухолей груди, связанные, по нашему мнению, с этногеографическими особенностями пациентов чеченской популяции.

В числе кандидатных генов для риска РМЖ нами рассматривался ген *BLM*, Р.Q548X мутация в котором, как было установлено петербургскими учеными, обнаруживается у 1,1% российских пациенток с злокачественными опухолями груди. Для поиска и изучения эффекта мутаций Р.Q548X в гене *BLM* у женщин, этнических чеченок, с гистологически уточненным диагнозом рак молочной железы нами было проведено генотипирование 220 образцов ДНК, выделенной методом универсальной пробоподготовки из венозной крови пациенток и 300 образцов ДНК, выделенной из крови здоровых на момент проведения исследования доноров. Для скрининга мутации Р.Q548X в 7-м экзоне гена *BLM* был использован метод анализа кривых плавления (High Resolution Melting, HRM). В результате проведенного анализа кривых плавления искомая мутация в исследуемых образцах не подтвердилась. Однако таргетное секвенирование образцов ДНК, показавших сомнительный результат, выявило в одном из образцов синонимичную мутацию в гене *BLM*. Аналогичные результаты получены при анализе мутаций в гене *CHEK2* у пациентов, позиционируемом как один из генетических маркеров РМЖ. Самая распространенная мутация в гене *CHEK2* у жительниц России – -1100delC, частота встречаемости составляет около 2%. В результате анализа гена *CHEK2* из трех мутаций: 1100delC, 470C>T, IVS2+1G>A в исследуемой выборке три образца показали носительство мутантного аллеля миссенс-полиморфизма 470C>T.

Р.Я. Блюм^{1,2}, А.Н. Рабокoнь², Г.В. Лантух², Я.В. Пирко²,
А.И. Емец², Д.Б. Рахметов³, Я.Б. Блюм²

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ СОСТАВОМ ЖИРНЫХ КИСЛОТ У РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ ЯРОЙ И ОЗИМОЙ СУРЕПИЦЫ И ГЕНЕТИЧЕСКИМИ ДИСТАНЦИЯМИ МЕЖДУ НИМИ

¹УНЦ «Институт биологии и медицины» Киевского
национального университета имени Тараса Шевченко
Украина, 03022, г. Киев, просп. Академика Глушкова, 2
e-mail: blume.rostislav@gmail.com

²Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины
Украина, 04123, г. Киев, ул. Осиповского, 2а
e-mail: cellbio@cellbio.freenet.viaduk.net

³Национальный ботанический сад им. Н.Н. Гришка
НАН Украины
Украина, 01014, г. Киев, ул. Тимирязевская, 1
e-mail: jamal_r@bigmir.net

Представители семейства Крестоцветные (*Brassicaceae*) являются одними из важнейших масличных культур, обеспечивающих примерно 12% мирового производства пищевых растительных масел. В частности, к наиболее важным их представителям относятся сурепица: ярая (*Brassica rapa subsp. oleifera* f. *annua* D.C.) и озимая (*Brassica rapa subsp. oleifera* f. *biennis* D.C.). Важной сельскохозяйственной особенностью сурепицы является её сезонная пластичность. Семена сурепицы способны прорастать при температуре +2°C, вегетация в фазе розетки продолжается при 5-6°C, а проростки сурепицы при наличии снежного покрова могут выдерживать морозы до -25-30°C. Сурепица также отличается высоким содержанием масла в семенах (до 38,1%). Для того, чтобы определить предпочтения в путях использования масла сурепицы (технические и пищевые цели), нами был проведен сравнительный анализ жирнокислотного состава масла различных сортов ярой и озимой сурепицы украинской селекции.

Для исследований были использованы семена селекционных форм и сортов сурепицы ярой и озимой, созданных в отделе новых культур Национального ботанического сада им. Н.Н. Гришка НАН Украины. Сурепица озимая была представлена формами ЕОСОФУ, ЕОСОФГл., ЕОСОФДн., ЕОСОФВол., Ориана-1 и сортом Ориана;

сурепица ярая – формами ЕОСЯФ-1, ЕОСЯФ-2, ЕОСЯФР и сортообразцом Пионер-ЮТ. В результате хроматографического анализа были установлены закономерные различия жирнокислотного состава между озимыми и ярыми сортами. Озимые сорта отличаются более высоким содержанием эруковой (22:1) кислоты (до 42,8%), в то время как ярые сорта имеют более высокое содержание олеиновой (18:1) кислоты (до 46,92%), а у озимых сортов эта кислота присутствует в масле в количестве 17,71-21,34%. Стоит также отметить, что гондоиновая (20:1) кислота, которая является промежуточным продуктом синтеза эруковой кислоты, содержится как в масле озимых, так и ярых сортов в достаточно большом количестве (до 12,77% и до 7,98% соответственно).

Для определения генетических дистанций между исследованными генотипами ярой и озимой сурепицы была проведена оценка полиморфизма длины интронов генов β -тубулина, в результате чего была построена соответствующая дендрограмма. Исходя из полученных результатов, можно утверждать, что разделение сортов на две группы по жирнокислотному составу (высоко- и низкоэруковые) обусловлено не особенностями селекции, направленной на изменение состава, а их принадлежностью к ярым или озимым формам. В ветви дендрограммы, сформированной озимыми сортами и сортообразцами, присутствует одна ярая форма (ЕОСЯФ-2), у которой сохраняются все особенности состава масла, присущие ярым формам. Возможно, это объяснимо с учетом того, что некоторые из изученных нами ярых сортов были получены путем вернализации озимых. Но в целом можно сделать заключение, что обнаруженные различия жирнокислотного состава (значительно меньшее содержание эруковой кислоты у ярых генотипов) обусловлены принадлежностью именно к ярым или озимым формам.

А.А. Буракова, В.А. Лемеш, Е.А. Волуевич

ПЦР-ТЕСТИРОВАНИЕ ГЕНА *Tsn1* ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ТОКСИНУ А В КОЛЛЕКЦИИ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДНЫХ ЛИНИЙ ТРИТИКАЛЕ

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: a.burakova@igc.by

Одной из важных болезней тритикале в условиях Республики Беларусь является септориозная пятнистость (септориоз колоса), которую вызывает некротрофный патоген *Parastagonospora nodorum* (Berk.). По данным белорусских ученых, от септориоза в отдельные годы наблюдаются потери до 30% урожая зерна озимого тритикале. Вредоносность болезни зависит от складывающихся погодных условий и генотипа сорта. Важной стратегией в разработке новых сортов тритикале с высокой устойчивостью является отбор желаемых генотипов с помощью молекулярных маркеров к генам, участвующим в обеспечении этого признака. С использованием такого подхода сроки создания устойчивого сорта можно сократить вдвое. Перспективно и использование биотехнологического подхода, позволяющего быстро получать гомозиготные генотипы при культивировании пыльников. Метод культуры *in vitro* также является ценным источником соматической генетической изменчивости.

Ген чувствительности растения-хозяина *Tsn1* участвует в опосредованном взаимодействии с эффектором - токсином белковой природы ToxA, присутствующим в некоторых изолятах как возбудителя септориоза колоса, так и возбудителя желтой пятнистости листьев *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechsler. В мировой коллекции ToxA был обнаружен у 80% изолятов *P. tritici-repentis*, а в коллекциях *P. nodorum* – у 24-36%. Наличие в фитопатосистеме взаимодействия SnToxA-*Tsn1* и PtrToxA-*Tsn1* приводит к развитию септориоза колоса и желтой пятнистости листьев, соответственно. Об увеличении частоты распространения пиренофороза на тритикале сообщали польские исследователи.

Идеальной стратегией селекции на устойчивость к некротрофным патогенам является идентификация генов чувствительности и их удаление из генофонда культуры. Отсутствие генов

чувствительности у растения-хозяина обуславливает несовместимые взаимодействия с соответствующими эффекторами, и как следствие – повышение устойчивости. Знание генов чувствительности к некротрофным эффекторам и наличие эффективных маркеров для определения этих генов у растений позволяет проводить маркер-опосредованный отбор генотипов без генов чувствительности в процессе селекции на устойчивость.

В лаборатории генетической и клеточной инженерии методом культуры пыльников были получены удвоенные гаплоидные линии озимого и ярового тритикале. С использованием SSR-маркеров, разработанных к гену *Tsn1*, проведен анализ коллекции из 104 линий. Отмечена разная диагностическая ценность маркеров. Например, с помощью маркера *Xfcp623* выявлено 53 линии с фрагментом амплификации, свидетельствующим о присутствии гена *Tsn1*, а с *Xfcp1* – 97 линий. Обнаружена гетерогенность среди линий, имеющих общее происхождение (Лотос × Рубин, Д-8038 × Нагано, Г-1648 и др.) при использовании маркера *Xfcp623*, что может указывать и на соматоклональную изменчивость. В других случаях показано наличие или отсутствие гена *Tsn1* у всех линий идентичного происхождения. Так, 16 линий, полученных от ДН-27-1-08-1, содержали фрагмент амплификации, связанный с геном *Tsn1*, как при использовании маркера *Xfcp623*, так и *Xfcp1*. Выявлены также линии без гена *Tsn1*, которые предпочтительнее использовать в качестве исходного материала для селекции на устойчивость к септориозу колоса.

Е.Г. Веремеенко, А.Ю. Бобарикина, А.И. Семашко,
Н.П. Максимова

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ДАГФ-СИНТАЗ I ТИПА

Белорусский государственный университет, биологический
факультет

Республика Беларусь, 220030, г. Минск, ул. Курчатова, 10

e-mail: veremeenkoKatya@yandex.ru

3-дезоксид-Д-арабино-гептулозонат 7-фосфат синтаза (ДАГФ-синаза) является первым ферментом шикиматного пути, обеспечивающего синтез ароматических соединений, в том числе, трёх ароматических аминокислот. Все известные на сегодняшний день ДАГФ-синтазы подразделяют на I и II типы. ДАГФ-синтазы I типа могут быть дополнительно разделены на Ia и Ib подтипы. В основе такого деления лежат относительно небольшие модификации в аминокислотной последовательности, которые приводят к значительным отличиям в механизмах регуляции активности данных ферментов. В геномах большинства животных, грибов и вирусов, в отличие от бактерий, нет генов собственно ДАГФ-синтаз I типа, но имеются гены белков, в состав которых входит ДАГФ-синтазный домен. Высокая консервативность нуклеотидных последовательностей и кодируемых ими ДАГФ-синтаз у представителей различных систематических групп делает интересным изучение этих ферментов с эволюционной точки зрения.

Целью данной работы является филогенетический анализ аминокислотных последовательностей ДАГФ-синтаз I типа у представителей различных систематических групп.

Выравнивание аминокислотных последовательностей (по алгоритму ClustrW) ДАГФ-синтаз *E. coli*, *S. cerevisiae*, *T. maritime*, *P. furiosus* и бактерий рода *Pseudomonas* выявляет существование нескольких закономерностей. Во-первых, нерегулируемые ферменты подтипа Ib характеризуются отсутствием протяжённого участка с N-конца, тогда как регулируемая Ib ДАГФ-синтаза имеет ярко выраженный N-концевой домен. Согласно литературным данным, это может быть результатом приобретения нерегулируемой предковой формой ДАГФ-синтазы

АТС-регуляторного домена. Во-вторых, регулируемые ДАГФ-синтазы Ia подтипа отличаются более коротким N-концевым доменом и присутствием дополнительных протяженных участков полипептидной цепи размером в 13 аминокислотных остатков в позициях 164 и 248. Это дополнительный регуляторный домен у Ia-подтипа ДАГФ-синтаз. В аллостерической регуляции Ia ДАГФ-синтаз принимает участие и укороченный N-концевой регуляторный домен. У тирозин-зависимых изоформ, в отличие от фенилаланин-зависимых, имеются три дополнительные аминокислоты на N-конце.

В результате построения филограммы и последующего проведения филогенетического анализа было показано, что распределение ДАГФ-синтаз бактерий (*E. coli*, *S. cerevisiae*, *T. maritime*, *P. furiosus*, *P. fluorescens*, *P. antarctica* и *P. putida*) осуществляется по двум кладам, соответствующим Ia и Ib ферментам. Домены ДАГФ-синтаз животных, входящие в состав синтазы N-ацетилнейраминовой кислоты (NeuB) у *Mus musculus* и *Canis lupus*, и вируса *Cafeteria roenbergensis*, распределяются в одну кладу с бактериальными ферментами Ib подтипа, тогда как грибные (ДАГФ-синтаза *Metarhizium anisopliae*, ферменты синтеза гликогена у *Metarhizium anisopliae*, *Fonsecaea pedrosoi* и *Mycena chlorophos*) – в одну кладу с Ia подтипом.

Н.В. Волкова, А.В. Солнцева

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ РАЗНЫХ ФОРМ ВРОЖДЕННОЙ ДИСФУНКЦИИ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ НА ФОНЕ ИДЕНТИЧНЫХ МУТАЦИЙ У СИБСОВ

*2-я городская детская клиническая больница г. Минска,
Республика Беларусь, 220020, г. Минск, ул. Нарочанская, 17
Белорусский государственный медицинский университет
Республика Беларусь, 220116, г. Минск, просп. Дзержинского, 83
e-mail: Volkova_nv@tut.by*

Девочка А. поступила в Республиканский детский эндокринологический центр на 7-е сутки жизни в связи с амбисексуальным строением наружных половых органов. При кариотипировании установлен нормальный женский кариотип 46,XX. В биохимическом анализе крови выявлены гиперкалиемия и гипонатриемия. По результатам гормонального обследования отмечено повышение уровней 17-гидроксипрогестерона (17-ОПГ) и дигидроэпиандростерона. Ребенку был поставлен диагноз: врожденная дисфункция коры надпочечников (ВДКН), сольтертяющая форма.

При сборе семейного анамнеза мама пациентки указала на особенности своего старшего сына: высокие темпы роста, появление угревой сыпи с 2 лет. На момент рождения сестры мальчику было 2 года 8 мес. При осмотре рост 106 см (>97 перцентили). На коже лица, верхней части спины обильная угревая сыпь. Кожа мошонки пигментирована, гонады допубертатного объема. Костный возраст 6 лет 10 месяцев, прогнозируемый рост 159 см при генетическом 177 см. У мальчика установлено повышение уровня 17-ОПГ и тестостерона. Уровни электролитов в крови были в норме. Ребенку был поставлен диагноз: ВДКН, вирильная форма.

У детей проведено молекулярно-генетическое обследование. Несмотря на различие клинических форм заболевания, у обоих пациентов установлено компаундное гетерозиготное носительство делеции 30 кб гена *CYP21A2* и мутации I2G(IVS2-13A/C<G).

Однонуклеотидные варианты мутаций сайта сплайсинга во 2-ом интроне – одни из частых генных нарушений при классических формах ВДКН. У 80-90% пациентов, гомозиготных по мутации во втором интроне, наблюдается сольтертяющая форма заболевания. В остальных случаях возможна простая вириль-

ная форма. Отсутствие четкой связи генотипа и фенотипа при мутации I2G связывают с вариабельностью факторов сплайсинга РНК мутантного гена, возможностью альтернативного сплайсинга и, как следствие, частичным сохранением экспрессии гена.

Делеция 30 кб гена составляет 20-30% мутантных аллелей гена 21-гидроксилазы. Делеция затрагивает 5'-конец гена 21-гидроксилазы *CYP21A2*, 3'-конец псевдогена *CYP21A1P* и разделяющий их участок хромосомы длиной 30 кб. В результате образуется химерный ген *CYP21A1P/CYP21A2*. В зависимости от места слияния фрагментов *CYP21A2* и *CYP21A1P* выделяют 9 видов химерных генов. В семи из них (составляют 97% случаев делеции 30 кб гена) 2-ой интрон целиком принадлежит фрагменту псевдогена, следовательно несет в себе мутацию IVS2-13A/C<G. Это приводит к развитию сольтеряющей формы ВДКН.

Заключение. Представленный клинический случай является примером вариабельности клинических форм дефицита 21-гидроксилазы на фоне идентичных мутаций. В настоящее время представляется перспективным изучение связи фенотипа и генотипа при ВДКН. Возможность предсказать наиболее вероятную форму заболевания может быть использована при пренатальной диагностике, медико-генетическом консультировании.

Е.А. Волуевич

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОТБОРА ПРОТИВ ГЕНОВ
ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ЭФФЕКТОРАМ
PARASTAGONOSPORA NODORUM BERK.
ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ
ПШЕНИЦЫ К СЕПТОРИОЗУ**

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: Voluevitch@yandex.ru*

Септориоз колоса входит в тройку лидирующих в мире болезней пшеницы по экономически значимым потерям (снижает до 50% урожая зерна). В нашей стране эта болезнь является весьма вредоносной и включена в «Перечень особо опасных вредителей, болезней растений и сорняков» Республики Беларусь. Для защиты используют фунгициды, однако экологизация растениеводства требует возделывания устойчивых сортов. Этому способствуют исследования генетики взаимодействия растения-хозяина и патогена и разработка методов геномной биотехнологии для идентификации генотипов растений, предпочтительных для селекции.

Взаимодействие *P. nodorum* (*Septoria nodorum*) с пшеницей происходит в соответствии с «зеркальным» отражением классической схемы «ген на ген», когда реакция сверхчувствительности приводит не к устойчивости, как при облигатном паразитизме, а к восприимчивости, поскольку некротрофу для питания и образования спор требуется мертвая ткань. Гриб секретирует специализированные эффекторы, которые прямо или косвенно взаимодействуют с продуктами доминантных генов чувствительности пшеницы, приводя к некрозу и / или хлорозу ткани растения-хозяина, что способствует заражению патогеном и развитию болезни. Некротрофные эффекторы *P. nodorum* являются специфическими (селективными) к хозяину токсинами и представляют белки размером от 10 до 30 кДа. В течение последнего 10-летия открыто 9 взаимодействий с участием 8 эффекторов гриба и 9 генов чувствительности пшеницы. Лучше всего изучено взаимодействие *SnToxA-Tsn1*, так как доминантный ген *Tsn1* чувствительности растения к токсину *SnToxA* и доминантный ген *SnToxA*, кодирующий этот эффектор патогена, клони-

рованы. Совместимое взаимодействие *SnToxA-Tsn1* определяет до 95-99% фенотипической вариации болезни, что указывает на его значимость в развитии септориоза на растениях пшеницы. Первое открытое взаимодействие *SnTox1-Snn1* обуславливает до 58% вариации болезни. Другие известные взаимодействия также весьма значимы: *SnTox2-Snn2* определяет до 47% фенотипической вариации признака, *SnTox3-Snn3-B1* – 17%, *SnTox3-Snn3-D1* – 100%, *SnTox4-Snn4* – 41%, *SnTox5-Snn5* – 63%, *SnTox6-Snn6* – 27%, *SnTox7-Snn7* – 33%.

Идеальной стратегией селекции на устойчивость к септориозу колоса является выведение из генотипов пшеницы генов чувствительности к токсинам гриба. Это возможно при наличии эффективных молекулярных маркеров к этим генам. Мощным современным фактором отбора является эффекторная селекция (эффектормика), имеющая высокую пропускную способность. В ряде стран методу зондирования генофонда на основе использования эффекторов отдается предпочтение, так как эффекторы выступают в качестве функциональных маркеров. В этом случае для проведения отбора против генов чувствительности осуществляется оценка генотипов пшеницы инфильтрацией в лист токсинов или культурального фильтрата штаммов микроорганизмов (*Pichia pastoris*, *Escherichia coli*), трансформированных генами, контролирующими токсины *P. nodorum*. Однако, учитывая, что патоген имеет множество еще не открытых токсинов, более перспективным подходом является ассоциативное картирование (геномная селекция), позволяющее выявить как маркеры к генам, вносящим вклад в устойчивость к популяции гриба, так и желательные генотипы для селекции в данной зоне.

М.М. Воробьева¹, Д.В. Галиновский², Н.В. Воронова¹

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ГЕНОВ *CYP450* 4 И 6 СЕМЕЙСТВ У МОДЕЛЬНОГО ВИДА ТЛЕЙ *MYZUS PERSICAE* (SULZER, 1776)

¹Белорусский государственный университет
Республика Беларусь, 220030, г. Минск, пр. Независимости, 4
e-mail: masch.89@mail.ru

²Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27

Цитохромы р450 – крупное суперсемейство белков, кодируемое 660 генами, дифференцированными в клады, семейства и подсемейства в соответствии с филогенетической близостью. Известно, что цитохромы р450 4-го и 6-го семейств отвечают за нейтрализацию фитотоксинов в организме насекомых, питающихся соком растений. При этом количество паралогов данных генов в геномах различных видов насекомых, в частности тлей, значительно различается: от 85 в геноме *Acyrtosiphon pisum* (Harris, 1776) до 114 у *Myzus persicae* (Sulzer, 1776). Поскольку гены *CYP450* позволяют тлям адаптироваться к питанию на растениях с различным составом вторичных метаболитов, изучение генов 4 и 6 семейств *CYP450* является крайне важной задачей.

В данной работе мы оценили уровень генетических различий белок-кодирующей области генов *CYP450* из указанных семейств. Для этого сравнили гены *CYP6A13* [KR028423, XM001951431, XM003242856, KR028423], *CYP4C1* [XM001944057, XM008183425, XM001947219, XM001943888, XM016800410, XM001944016], *CYP4G15* [XM016800399, XM001944170], *CYP6A2* [XM001947885, KR028422], *CYP6J1* [XM003242954, JN989967], *CYP6A14* [KR028424], *CYP6K1* [XM001948386, XM008180339] и *CYP6CY3* [JQ246416, KR920624, KR920624, HM009309, KF218350, KF218351, KF218352, KF218353, KF218354, KF218355, KF218356, KF218357], оценили внутривидовое сходство/различие данных генов у тлей *M. persicae*, а также межвидовое сходство/различие данных генов у тлей видов *A. pisum* и *Aphis gossypii* Glover, 1877.

Установили, что *CYP450* 6-го семейства имеют участки, консервативные в ортологичных последовательностях. В последовательностях *CYP450* генов 4-го семейства не было выявлено консервативных участков как при сравнении последовательностей

из генома одного вида, так и в последовательностях генов данного семейства разных видов тлей.

Также в работе изучили генетическое сходство/различие гена *CYP6A13* у лабораторных линий тлей *M. persicae*, адаптированных к питанию на разных кормовых растениях, в частности редьке черной (*Raphanus sativus* L., 1753), перце овощном (*Capsicum annuum* L., 1753), моркови посевной (*Daucus carota* sub sp. *sativus* (Hoffm.) Arcang, 1882). Для этого клонировали фрагмент кодирующей области гена *CYP6A13* размером 1132 п.н. в вектор рJET1.2 в клетки бактерий *E. coli* XL1-Blue для оценки динамики микроэволюционных изменений в системе *CYP450* на примере гена *CYP6A13*, в связи с питанием насекомых на разных кормовых растениях.

Таким образом, можно заключить, что гены *CYP4* обладают предельно высоким внутривидовым и межвидовым уровнем генетической вариабельности. Для генов *CYP4* характерно большое количество интронов большой длины (до 6500 п.н.). Гены *CYP6* в сравнении с *CYP4* в целом более консервативны, в том числе при межвидовых сравнениях, несут меньшее число более коротких интронов, что делает их более удобными для изучения.

Н.В. Воронова, Ю.В. Бондаренко, М.М. Воробьева

**РАЗЛИЧИЯ В СКОРОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ
ЭВОЛЮЦИОННО-КОНСЕРВАТИВНЫХ
ГЕНОВ В ПРОЦЕССЕ ВИДООБРАЗОВАНИЯ
У НАСЕКОМЫХ РАЗНЫХ ТАКСОНОВ**

*Белорусский государственный университет
Республика Беларусь, 220030, г. Минск, пр. Независимости, 4
e-mail: nvoronova@bsu.by*

Процесс видообразования остается одним из проблемных вопросов эволюционной биологии. До сих пор нет единого мнения о том, является процесс видообразования непрерывным или прерывистым, существуют ли переходные формы в историческом ряду видов, а также можно ли использовать генетический критерий вида для разграничения рецентных форм, таксономический статус которых до конца не определен. С точки зрения молекулярной эволюции колоссальный интерес представляет оценка минимального уровня изменений, необходимого для образования нового вида, т.е. размерность генетического критерия вида, а также его «качество» – наличие хиатусов в уровне генетических различий в эволюционно-консервативных генах между сестринскими видами.

Изменчивость консервативных белок-кодирующих генов находитесь под действием строгого стабилизирующего отбора, элиминирующего мутантов с нарушенной структурой белка. К числу таких генов у животных относятся гены белков дыхательной цепи, факторов транскрипции, трансляции и элонгации, гистоновых белков и многие другие. Изменчивость нуклеотидной последовательности этих генов у насекомых обычно низка, что позволяет использовать их как филогенетические маркеры, при условии, что уровень их изменчивости в разных эволюционных линиях насекомых одинаков. Мы оценили уровень накопления генетической дистанции, сопровождающей процесс видообразования, в одном ядерном (*EF1a*) и трех митохондриальных (*COI*, *COII* и *cyt b*) генах насекомых разных таксонов отряда Hemiptera (группа сравнения) и Lepidoptera (внешняя группа). Общая выборка последовательностей, включенных в анализ, составила 10 522 уникальных последовательностей 2636 видов насекомых отряда Hemiptera и 3177 последователь-

ностей 36 видов насекомых из отряда Lepidoptera. Для всех последовательностей были рассчитаны генетические дистанции (GD) и оценено распределение частот встречаемости значений GD. По реальному распределению среди минимальных значений GD для каждого таксона определили дистанции, соответствующие внутривидовому уровню, и выбрали медианное значение минимальной GD (GDmin). Затем, используя компьютерное моделирование, предусматривающее построение эволюционного дерева «сверху вниз» (от листьев к корню) с учетом GDmin и «замирания» ветвей (соответствующему вымиранию в предлагаемой модели), мы построили графики распределения GD, полученных в результате моделирования, так, чтобы они совпадали с графиками распределения GD реальных данных, полученных для отряда Hemiptera. В результате анализа модели оказалось, что уровень изменения нуклеотидной последовательности анализируемых генов, соответствующий акту видообразования, в разных таксонах Hemiptera значительно различается (от 0,035 у Aphidoidea до 0,145 у Psylloidea). Оценив полученное распределение методом Колмогорова-Смирнова для нескольких групп, мы обнаружили, что медианные значения GDmin статистически различаются во всех группах. Компьютерное моделирование показало, что эти различия не обусловлены ни размером выборки, ни наличием вымерших эволюционных линий.

Л.С. Вязова¹, А.В. Солнцева², Е.А. Аксенова³,
Е.И. Дашкевич⁴

**ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ RS1800497
ПОЛИМОРФИЗМОМ ГЕНА *DRD2* И УРОВНЯМИ
ДОФАМИНА И ЛЕПТИНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ
У ДЕТЕЙ С РАЗЛИЧНЫМИ ФОРМАМИ ОЖИРЕНИЯ**

*¹Республиканский центр медицинской реабилитации
и бальнеолечения*

Республика Беларусь, 220114, г. Минск, ул. Макаенка, 17

*²Белорусский государственный медицинский университет
Республика Беларусь, 220116, г. Минск, пр. Дзержинского, 83*

*³Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: cytoplasmic@mail.ru*

*⁴10 городская клиническая больница,
Республика Беларусь, 220096, г. Минск, ул. Уборевича, 73*

Цель исследования: Установить взаимосвязь между индексом массы тела (ИМТ), генотипом по полиморфному локусу TaqI (rs1800497) гена рецептора D2 дофамина (DRD2), концентрациями лептина и дофамина в плазме крови у детей с различными формами ожирения. Проведено ретроспективное исследование 288 детей в возрасте от 0,4 до 17,9 лет, наблюдавшихся в амбулаторном эндокринологическом отделении УЗ «2 ГДКБ» г. Минска в период с 2009 до 2015 года. На базе лаборатории нехромосомной наследственности Института генетики и цитологии НАН Беларуси 179 пациентов были генотипированы по полиморфному локусу TaqIA (rs1800497) гена *DRD2*. В зависимости от SDS ИМТ дети были разделены: 1 – с нормальной массой (НМ) (от –1SDS до +1SDS, n=30), с алиментарным ожирением (АО) ($\geq +2$ SDS <до +4 SDS, n=98) и морбидным ожирением (МО) ($\geq +4$ SDS, n=160). Концентрации дофамина (Д) и лептина (Л) определены методом иммуносорбентного анализа с ферментной меткой (ELISA). В зависимости от плазменного уровня дофамина проведено процентильное разбиение на 4 группы пациентов: 1 гр. с низким уровнем дофамина (<4,99 пг/мл); 2 гр. с умеренно сниженным (4,99–11,64 пг/мл); 3 гр. с умеренно повышенным (11,65–60,0 пг/мл); 4 гр. с высоким Д (>60,0 пг/мл). Аналогично дети были поделены на 4 группы по концентрации лептина:

1 гр. с низким уровнем лептина (<13,15 нг/мл); 2 гр. с умеренно сниженным (13,15–23,78 нг/мл); 3 гр. с умеренно повышенным (23,79–40,18 нг/мл); 4 гр. с высоким лептина (>40,18 нг/мл) Статистическая обработка результатов проведена с использованием программы SPSS Statistics 21. Использованы критерии χ^2 с показателем V Крамера, отношение правдоподобия с показателем коэффициент неопределенности, статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты: В группе НМ 6,7 % детей имели высокий уровень витамина дофамина, 40% – умеренно сниженный, в отличие от группы МО, в которой у 32% пациентов была обнаружена высокая концентрация дофамина, у 28% – умеренно повышенная концентрация ($p=0,038$). Установлены различия по уровню лептина: у детей с НМ 86,7% имели низкую концентрацию лептина, у 34,7% пациентов с АО уровень лептина был умеренно сниженным, 31,5% больных с МО имели высокий уровень лептина и 17,7% – низкий ($p=0,0001$). У детей с МО и АО выявлена более высокая частота A1A1 генотипа по полиморфному локусу rs1800497 гена DRD2 (по 45,5 % соответственно) в отличие от группы НМ, в которой частота A1A1 генотипа была достоверно ниже (9,1%) ($p=0,012$). Взаимосвязей между A1A1 генотипом и концентрациями дофамина и лептина плазмы не выявлено.

Выводы: Установлена достоверная взаимосвязь между частотой A1A1 генотипа по полиморфному локусу TaqIA (rs1800497) гена DRD2, концентрациями в плазме крови дофамина и лептина и степенью избытка массы тела ($p=0,012$, $p=0,038$, $p=0,0001$ соответственно).

Д.В. Галиновский, Т.А. Подвицкий, Л.В. Хотылева,
А.В. Кильчевский

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ БИОИНФОРМАТИКИ ДЛЯ ПОИСКА ГЕНОВ- КАНДИДАТОВ КАЧЕСТВА ЛЬНОВОЛОКНА

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: D.Galinousky@igc.by*

Развитие техники секвенирования нового поколения (NGS) позволило расшифровать геномы многих высших растений, в том числе и льна культурного (*Linum usitatissimum* L.). Последующая модификация NGS-метода RNA-seq дала возможность изучать представленность транскриптов генов в различных тканях растительного организма. Для льна культурного, например, в открытом доступе имеются данные проекта PRJNA251268, который был выполнен в Joint Genome Institute. Этот проект содержит сырые данные 18-ти экспериментов секвенирования транскриптома флоэмы и ксилемы стебля.

В работе мы ставили цель найти гены-кандидаты качества льноволокна. Нами были выбраны подвид *elongatum* Vav. et Ell. (лен-долгунец сорт Блакіт, Беларусь) и подвид *crepitans* Voenn. (лен-прыгунец), которые существенно различаются по морфо-биологическим признакам. Поскольку льноволокно представляет собой клетки флоэмы с гипертрофированной клеточной стенкой, то мы исследовали гены, связанные с биогенезом клеточной стенки – *CesA* (синтез целлюлозы), *Csl* (синтез нецеллюлозных полимеров) и *Ctl*-гены (взаимодействие различных полимеров клеточной стенки).

Методами биоинформатики в геноме льна идентифицировали 16 *CesA*-генов, 23 *Csl*-гена и 33 последовательности *Ctl*-генов. Последовательности *CesA*-генов отнесли к шести известным классам – *CesA1/10*, *CesA3*, *CesA4*, *CesA5/6/2/9*, *CesA7* и *CesA8*. Среди последовательностей *Csl*-генов 16 генов отнесли к *CslD*, 5 – к генам *CslG*, и по одному – *CslE* и *CslB*. *Ctl*-гены были разбиты на три группы – А, В и С, причем группа В включала наиболее различающиеся между собой последовательности. Для анализа представленности транскриптов идентифицированных генов использовали данные RNA-seq транскриптома флоэмы и ксилемы

стебля льна проекта PRJNA251268. При анализе представленности транскриптов установили, что *CesA*-гены, связанные с биогенезом вторичной клеточной стенки, доминируют в ксилеме, и практически не обнаруживаются в транскриптом флоэмы, а представленность транскриптов *CesA*-генов, ассоциированных с первичной клеточной стенкой, не различается во флоэме и ксилеме. Среди *Csl*-генов дифференциальную экспрессию фиксировали для генов *CslG* и *CslE*. При анализе данных РНК-секвенирования установили, что функционирует небольшое количество из 33, присутствующих в геноме *Ctl*-генов (*Ctl1*, *Ctl2*, *Ctl4*, *Ctl5*, *Ctl10*, *Ctl15* и *Ctl21*), и они имеют высокий уровень экспрессии. Во флоэме отмечена экспрессия генов, которые не детектировали в ксилеме – *Ctl10*, *Ctl15*, *Ctl21*.

При оценке уровня экспрессии *CesA*, *Csl* и *Ctl*-генов в количественной ПЦР в стеблях льна-долгунца и льна-прыгунца обнаружили существенную разницу в функционировании *CslG4* и некоторых *Ctl*-генов. На стадии быстрый рост в стебле льна-долгунца гены *Ctl19*, *Ctl21* и *Ctl23* экспрессировались, соответственно, в 17560, 133 и 2 раза сильнее, чем в стебле льна-прыгунца. А экспрессия гена *CslG4*, наоборот, была в 2 раза выше в стебле подвида *crepitans*.

Таким образом, гены *CslG4*, *Ctl19*, *Ctl21* и *Ctl23* могут рассматриваться как потенциальные кандидаты, влияющие на качество формируемого льноволокна.

**В.А. Ганизода, М.М. Якубова, Ш.Д. Саидмурадов,
З. Эшонова**

ВЛИЯНИЕ КЛИМАТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ПОРАЖАЕМОСТЬ ЖЕЛТОЙ РЖАВЧИНОЙ И УРОЖАЙНОСТЬ ЯРОВОЙ И ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

*Центр инновационной биологии и медицины АН РТ
Республика Таджикистан, 734017, г. Душанбе, ул. Каримова, 27
e-mail: mukhiba@mail.ru, shavkat_said777@mail.ru*

Создание и внедрение в производство устойчивых к желтой ржавчине сортов пшеницы является экономически выгодным для производства и экологически эффективным процессом. Использование генетически устойчивых сортов является наиболее эффективным и надежным методом контроля над болезнями, в том числе над желтой ржавчиной. Также в селекционном процессе проведение исследований и оценка сортов и линий пшеницы на устойчивость к заболеваниям, сохранение стабильного высокого урожая в различных экологических условиях возделывания является одним из важных факторов.

В связи с этим нам представлялось актуальным изучить и отобрать сорта пшеницы, характеризующиеся устойчивостью к желтой ржавчине, скороспелостью и урожайностью в зависимости от условий возделывания.

В качестве объекта исследований были взяты районированные сорта мягкой пшеницы Ориён, Сомони, твердые пшеницы Лалмикор-2, Ватан и изогенные линии АНК-15 и Н-67 (линии ИЦиГ СО РАН).

Полевые опыты проводились на опытных участках Центра (г. Душанбе, предгорная зона, высота 800 м над ур. м.) и на высокогорной биологической станции «Сия-Кух» (Анзобский перевал, 2500 м над ур. м.) в течение 2013–2016 гг. Посев в предгорной зоне произведён в марте, а в условиях высокогорья во второй половине мая.

Исследования, проведенные в 2014–2016 гг. в предгорной зоне, показали, что среди изученных сортов и линий пшеницы наибольшую устойчивость к желтой ржавчине проявили сорта Лалмикор-2 и Ватан. Сорта Сомони и Ориён на начальном этапе развития были устойчивыми к этой болезни, однако в фазу

молочно-восковой спелости они поражались патогеном до 20-30%. Изогенные линии АНК-15, Н-67 имели восприимчивую реакцию и поражались жёлтой ржавчиной до 40%.

В условиях высокогорья во все годы исследования сорта Сомони, Ориён, Лалмикор-2, Ватан и линии АНК-15, Н-67 проявили устойчивость к жёлтой ржавчине и имели оценку «О» баллов.

В предгорной зоне более скороспелыми оказались сорта мягкой пшеницы Ориён и твёрдой пшеницы Лалмикор-2 (87–90 дней). Самым позднеспелым оказался сорт твёрдой пшеницы Ватан. В условиях высокогорья вегетационный период этого сорта составил от 130 до 140 дней.

По урожайности зерна в предгорной зоне более урожайным оказался сорт Ориён, (32,5 ц/га). У линий АНК-15, Н-67, сортов Сомони, Лалмикор и Ватан урожайность зерна составила 22,7–25,8 ц/га соответственно.

В условиях высокогорья было выявлено, что сорта Лалмикор-2 и Ориён оказались более урожайными (27,0–32,05 ц/га) по сравнению с линиями АНК-15, Н-67, сортами Сомони и Ватан, у которых урожайность составила от 20,0 до 24,4 ц/га.

Таким образом, в предгорной зоне (высота 800 м над ур. м.) устойчивыми к жёлтой ржавчине сортами оказались Лалмикор-2 и Ватан. Их урожайность за 2013–2016 гг. в среднем составила 23,5 ц/га. Наибольшая урожайность за период исследования получена от сорта Ориён (32,5 ц/га). В условиях высокогорья все изучаемые сорта проявили устойчивость к жёлтой ржавчине в отличие от предгорной зоны возделывания. Это возможно объясняется тем, что в условиях высокогорья присутствие аэрогенной первичной инфекции спор жёлтой ржавчины ограничено.

**Р.Р. Гареев^{1,2}, А.А. Лунькова², З.Г. Кокаева², Е.И. Ярыгина¹,
А.В. Королев², В.И. Масленникова², Е.А. Климов¹**

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РАСПРОСТРАНЁННОСТИ ВИРУСОВ ПЧЁЛ НА ЗАПАДНОЙ ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

*¹ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина
Россия, 109472, г. Москва, ул. Академика Скрябина, 23
²ФГБОУ ВО МГУ имени М.В.Ломоносова, биологический
факультет
Россия, 119234, г. Москва, ул. Ленинские горы, д. 1, стр. 12
e-mail: klimov_eugene@mail.ru*

Массовая гибель пчёл – ассоциативное заболевание, вызванное клещом *Varroa* и одним или несколькими патогенными вирусами. Инвазии, осложнённые вирусными инфекциями, как правило, носят синергический характер, способствуют более тяжёлому проявлению патологического процесса и высокой смертности пчёл.

Статистическая информация по гибели пчелиных семей на пасеках свидетельствует о том, что как в нашей стране, так и в европейских странах, США и Китае пчеловоды стали регистрировать бессимптомную массовую гибель пчелиных семей. По предварительным подсчётам, гибель семей на пасеках варьирует от 28 до 100% и в среднем составляет 72%. Если не принять экстренных мер, то количество пчелиных семей в ближайшем будущем может резко сократиться, что напрямую угрожает продовольственной безопасности страны, а также влечёт за собой утрату уникального генофонда медоносных пчёл.

Целью работы было изучение с помощью молекулярно-генетических методов представленности четырёх вирусов, вызывающих массовую бессимптомную гибель пчёл, в областях западной территории Российской Федерации (Ростовской, Пензенской, Воронежской, Архангельской, Белгородской, Рязанской областях и в Краснодарском крае).

В данной работе проводили выявление следующих вирусов: BQCV (вирус черных маточников), DWV (вирус деформации крыла), KBV (кашмир-вирус) и IAPV (израильский вирус острого паралича). Это РНК-содержащие вирусы, в цикле размножения которых отсутствует стадия ДНК.

Материалы и методы. С каждой точки отбирали 5-7 пчелиных семей. В работу брали 20-30 пчёл из семьи, живых пчёл замораживали и потом растирали в ступках до получения гомогенной массы. Затем проводили выделение тотальной РНК и обратную транскрипцию. Для оценки присутствия вируса проводили ПЦР со специфичными праймерами, результаты ПЦР анализировали в 2%-ном агарозном геле. В качестве контроля выделения РНК и обратной транскрипции использовали праймеры к кДНК гена β -актина пчёл.

По данным проведённого нами ПЦР-анализа, вирус черных маточников выявлен в образцах из всех исследуемых областей. Для вируса деформации крыла наблюдается аналогичная картина (за исключением Белгородской области). Израильский вирус острого паралича выявлен только в Белгородской и Архангельской областях. Наличие кашмир-вируса выявлено в Белгородской, Рязанской и Архангельской областях и в Краснодарском крае.

Результаты исследования указывают на присутствие на западной территории Российской Федерации четырёх патогенных вирусов пчёл, приводящих к массовой гибели пчелиных семей. Эти неутешительные данные говорят о необходимости разработки тест-систем для анализа исследованных в нашей работе и других вирусов пчёл, а также о необходимости постоянного мониторинга их распространения и поиска средств для терапии вирусных заболеваний пчёл.

А.Н. Гольцев, Е.Д. Луценко, М.В. Останков, Л.В. Степанюк

ОЦЕНКА ГЕННОЙ ЭКСПРЕССИИ, ОСОБЕННОСТЕЙ АДГЕЗИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА, ФАГОЦИТАРНОЙ АКТИВНОСТИ В КЛЕТКАХ ПЛАЦЕНТЫ ПОСЛЕ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ

*Институт проблем криобиологии и криомедицины
НАН Украины
Украина, 61016, г. Харьков, ул. Переяславская, 23*

Применение клеток плаценты с терапевтической целью в лечении аутоиммунных заболеваний предусматривает необходимость использования криоконсервированного материала с сохранением определенных функциональных свойств. Адгезивные свойства и фагоцитарная активность клеток плаценты являются главными механизмами в обеспечении естественной резистентности и индукции формирования специфического иммунного ответа. Согласно современным представлениям, клетки, экспрессирующие фермент индоламин-2,3 диоксигеназу (ИДО), вовлекаются в индукцию иммунной толерантности при физиологических и патологических условиях. Известно, что для клеток плаценты характерна высокая активность энзима индоламин-2,3 диоксигеназы (ИДО), необходимого для ингибиции пролиферации Т-клеток матери, и предотвращения отторжения тканей плода. Существуют данные, свидетельствующие о важности ИДО-активности в регуляции течения экспериментального коллагенового артрита, что теоретически обосновывает возможность использования экзогенных источников ИДО для лечения аутоиммунной патологии.

Целью работы была оценка экспрессии гена *ido* (индоламин 2,3-диоксигеназы), адгезивного потенциала, фагоцитарной активности клетками плаценты после криоконсервирования в различных условиях.

Суспензию клеток плаценты (СКП) получали из хориального участка ткани зрелой плаценты мышей 18-19 суток гестации. СКП криоконсервировали под защитой 10% раствора диметилсульфоксида (ДМСО) (суспензия КД) либо 10% раствора пропандиосахароля (ПДС) (суспензия КП) на программном замораживателе (УОП-1, производства ОП ИПКиК НАН Украины). Количество адгезирующих клеток (АК) определяли

после инкубации СКП в пластиковых чашках (Spectar, Сербия) при температуре 37 °С в течение 1 часа. Содержание клеток, экспрессирующих молекулу межклеточной кооперации и адгезии – CD54 – оценивали на проточном цитофлюориметре FACS Calibur (Becton Dickenson, USA). Экспрессию гена *ido* определяли методом ПЦР с этапом обратной транскрипции (ОТ) в режиме реального времени на анализаторе нуклеиновых кислот (АНК-16, Россия) и полуколичественным анализом ОТ-ПЦР в биоанализаторе Agilent 2100 Bioanalyzer (США). Праймеры для гена *ido* и нормировочного гена *18SrRNA* были сконструированы на основе базы данных «GenBank» (NM_008324.1 и NR_003278.3 соотв.).

После криоконсервирования СКП с ДМСО либо с ПДС повышалось количество АК. При этом увеличение содержания АК при криоконсервировании в режиме КП, в отличие от режима КД, было обусловлено повышением количества CD54⁺ клеток. В суспензии КП наблюдали усиление фагоцитарной активности клеток и повышение экспрессии гена *ido* по сравнению с экспрессией, отмеченной в суспензии КД, что может свидетельствовать о том, что выбор условий криоконсервирования определяет различия в проявлении иммунорегуляторной активности и генной экспрессии клеток плаценты.

Р.И. Гончарова¹, Т.Д. Кужир¹, А.А. Яцкив¹, Н.В. Савина¹,
Н.В. Никитченко¹, Н.Л. Бильская³, М.Г. Мысливец⁴,
И.Д. Чижевская⁵, А.М. Чичко², А.В. Сукало²

АНАЛИЗ ПОЛИМОРФНЫХ ЛОКУСОВ ГЕНОВ ИММУННОГО И ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТОВ У БЕЛОРУССКИХ ПАЦИЕНТОВ С ЮВЕНИЛЬНЫМ ИДИОПАТИЧЕСКИМ АРТРИТОМ

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: R.Goncharova@igc.by

²УО «Белорусский государственный медицинский университет»
Республика Беларусь, 220116, г. Минск, пр. Дзержинского, 83

³УЗ «Гомельская областная детская клиническая больница»
Республика Беларусь, 246050, г. Гомель, ул. Жарковского, 7

⁴УЗ «Гродненская областная детская клиническая больница»
Республика Беларусь 230029, г. Гродно, ул. Островского, 22

⁵УЗ «4-я городская детская клиническая больница»
Республика Беларусь, 220118, г. Минск, ул. Шишкина, 24

Этиология и патогенез ревматических заболеваний детского возраста, среди которых ювенильный идиопатический артрит (ЮИА) занимает преобладающее место, выяснены недостаточно. Изучение молекулярно-генетических основ ЮИА будет способствовать ранней диагностике и эффективному лечению заболевания.

Для выявления генетических факторов предрасположенности к ЮИА изучен полиморфизм генов, вовлеченных в формирование иммунного и воспалительного ответов: *TNFA* (rs1800629, rs361525), *PTPN22* (rs24766012), *MIF* (rs755622, rs5844572), *CTLA4* (rs5742909, rs231775), *STAT4* (rs7574865), а также генов репарации ДНК: *XPD* (rs1799793) и *XRCC1* (rs25487) в трех когортах пациентов: 156 детей с диагнозом ЮИА, 114 – с суставным синдромом и 182 условно здоровых детей. Выделение клинических подтипов ЮИА проводилось согласно классификации ILAR. Генотипирование осуществлялось посредством ПЦР-ПДРФ, ПЦР в реальном времени или фрагментного анализа. Среди детей, страдающих ЮИА, преобладали девочки (65,4%), а наиболее распространенным подтипом заболевания был олигоартрит (60%). Аллельные ча-

стоты во всех изученных локусах в контрольной когорте были аналогичны частотам, характерным для других европейских популяций.

Было установлено, что гетерозиготный вариант СТ полиморфизма C1858T *PTPN22* ассоциирован с риском развития суставного синдрома у мальчиков ($p = 0,0037$), а гетерозиготный генотип Asp/Asn *XPD* – с риском развития ЮИА у девочек ($p = 0,05$). Показано, что полиморфные гомозиготы CC по локусу G-173C *MIF* чаще встречались у мальчиков с диагнозом ЮИА, чем у девочек с таким же диагнозом ($p = 0,038$). Стратификация по подтипам ЮИА выявила, что в группе детей с олигоартритом достоверно чаще встречаются нормальный аллель G и гомозиготы GG по полиморфизму rs7574865 гена *STAT4* ($p = 0,02$ и $p = 0,03$ соответственно), а у пациентов с полиартритом – полиморфный аллель G по варианту A49G *CTLA4* ($p = 0,03$) и наблюдается тенденция к снижению частоты нормальных гомозигот AA ($p = 0,09$).

Таким образом, анализ ассоциаций полиморфных вариантов исследуемых генов выявил специфичность распределения частот некоторых аллелей в зависимости от пола пациентов и подтипа заболевания.

О.В. Горгун¹, И.М. Голоенко²

**РОЛЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ
ФЕРМЕНТОВ СИСТЕМЫ ДЕЗИНТОКСИКАЦИИ
КСЕНОБИОТИКОВ В ОЦЕНКЕ РИСКА ОСТРОГО
ЛЕКАРСТВЕННО ИНДУЦИРОВАННОГО
ЭКСТРАПИРАМИДНОГО СИНДРОМА
ПРИ ШИЗОФРЕНИИ**

¹*Белорусский государственный медицинский университет
Республика Беларусь, 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83*

²*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27*

Основной проблемой, осложняющей медикаментозное лечение шизофрении, является возникновение нежелательных лекарственных реакций, патогенетически связанных с экстрапирамидной системой. Цель исследования: установить взаимосвязь между полиморфными вариантами генов *DRD2*, *CYP2D6*4*, *GSTM1*, *GSTT1* и возникновением острых лекарственно индуцированных экстрапирамидных расстройств при лечении шизофрении. Проведено обсервационное, поперечное исследование в контрольных группах с направленным формированием групп сравнения. Предметом исследования явились лекарственно индуцированный паркинсонизм и акатизия у пациентов с параноидной шизофренией проходивших стационарное лечение в Республиканском научно-практическом центре психического здоровья в связи с обострением психотической симптоматики. В исследование было включено 137 пациентов (65 мужчин, 72 женщины). Все исследуемые пациенты были разделены на 3 группы сравнения в зависимости от отсутствия или наличия у них на момент исследования экстрапирамидных нарушений по шкале ESRS-A (Extrapyramidal Symptom Rating Scale). 1-я группа сравнения (n=48) включала пациентов с шизофренией, у которых на момент исследования отмечались только симптомы лекарственной акатизии, 2-я группа сравнения (n=57) состояла из пациентов с наличием только лекарственного паркинсонизма, 3-я группа контрольная (n=32) состояла из пациентов с шизофренией, у которых отсутствовали ЭПР. Полиморфизм генетических факторов определялся в лаборатории нехромосомной наследственности Института

генетики и цитологии НАН Беларуси. ДНК из венозной крови выделяли методом фенольно-хлороформной экстракции.

Результаты: Лекарственно индуцированный паркинсонизм ассоциирован ($\chi^2=62,549$, $p<0,05$) с полиморфизмом гена *DRD2*, у пациентов с паркинсонизмом выявлена более высокая частота генотипа *A2A2* по полиморфному локусу rs1800497 гена *DRD2*. Лекарственно индуцированная акатизия имеет более сложную генетическую детерминацию. Наряду с полиморфным локусом rs1800497 гена *DRD2*, обнаружена ее связь ($\chi^2=19,02$, $p<0,05$) с полиморфным локусом rs3892097 гена *CYP2D6*4* и делециями генов *GSTM1* ($\chi^2=22,979$, $p<0,05$) и *GSTT1* ($\chi^2=19,379$, $p<0,05$). Полученные данные позволяют утверждать, что лекарственно индуцированная акатизия является не только экстрапирамидным расстройством, связанным с особым состоянием дофаминовых рецепторов, но и с явлением интоксикации ксенобиотиками, в роли которых выступают антипсихотические лекарственные средства.

**И.А. Гордей¹, О.М. Люсиков¹, И.С. Гордей¹, В.Е. Шимко¹,
С.И. Гриб², В.Н. Буштевич²**

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СОЗДАНИЯ НОВОГО ГЕНОФОНДА РЖИ И РЖАНО-ПШЕНИЧНЫХ АМФИДИПЛОИДОВ СЕКАЛОТРИТИКУМ

*¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: I.Gordej@igc.by*

*²Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию
Республика Беларусь, 222160, г. Жодино, ул. Тимирязева, 1*

В лаборатории цитогеномики растений института генетики и цитологии НАН Беларуси проводятся исследования по созданию нового генофонда самофертильных, полиплоидных и рекомбинантных форм ржи и ржано-пшеничных амфидиплоидов с цитоплазмой ржи (секалотритикум).

Самофертильные линии диплоидной ржи создавали на основе скрещиваний перспективных сортов с источником генов самофертильности (sf). Для выделения самосовместимых мужских стерильных (МС) и самофертильных (СФ) линий проведена идентификация S(1R), Z(2R), T(5R) – локусов с помощью молекулярных SSR- и STS-маркеров. Выявлен полиморфизм, подтверждающий многоаллельность S- и Z-локусов несовместимости озимой ржи. Сравнительный анализ гибридов F₁, полученных с использованием МС-линий ЦМС Р- и G-типов и СФ-линий показал снижение озерненности (на 31%) у гибридов F₁ на основе ЦМС Р-типа, что связано с более сложным контролем Р-ЦМС ядерных генов и нарушениями в митохондриальном геноме. Выявлена генотипическая специфичность ядерно-цитоплазматических взаимодействий генетических систем ЦМС (Ms) и самофертильности (Sf) у озимой ржи при формировании гетерозисных гибридов.

Для создания нового генофонда тетраплоидной ржи использовали современные высокопродуктивные диплоидные сорта, созданные нами СФ-линии и гибриды. Дупликацию генома ржи осуществляли с использованием метода зиготической аутополиплоидизации (первое деление зиготы) закисью азота (N₂O). Выход тетраплоидов составил в среднем 43,5% и до 85,7% в зависимости от генотипической специфичности сорта. Метод ха-

рактируется низким уровнем анеуплоидии, не превышающим 10%. Осуществлен перевод на тетраплоидный уровень современных сортов (Алькора, Юбилейная, Зарница и др.) и гибридов (F_1 Плиса, F_1 Валдай \times Каупо) озимой диплоидной ржи. Созданный материал передан в селекционный процесс, а также использован для создания нового генофонда гетероплазматических тритикале.

Нами разработана оригинальная методология синтеза нового типа ржано-пшеничных амфидиплоидов с цитоплазмой ржи – секалотритикум (*Secalotriticum*, S RRABB, $2n=6x=42$) и тетраплоидных форм ржи с интрогрессией генетического материала пшеницы (R^1 RRR, $2n=4x=28$) на основе утилизации частично нередуцированных 21-хромосомных RAB-гамет ржано-тритикальных пентаплоидных гибридов F_1 (S RRABR 1 , $5x=35$) при беккроссе на гексаплоидные тритикале и тетраплоидную рожь соответственно. Синтез секалотритикум является инновационным подходом к проблеме достижения сбалансированной экспрессии генетических систем исходных видов в условиях цитоплазмы ржаного типа, расширения биоразнообразия и обогащения генофонда исходного материала гексаплоидных тритикале на основе включения генетического потенциала современных высококачественных сортов тетраплоидной ржи и ее цитоплазматических геномов.

Генофонд исходного материала ржи и ржано-пшеничных аллополиплоидов и созданные формы маркированы по аллельному составу хозяйственно ценных генов короткостебельности (*H1/Ddw1* у ржи, *Rht-B1* у тритикале и секалотритикум) и устойчивости к предуборочному прорастанию зерна (*Vp1B*) и включены в селекционный процесс НПЦ НАН Беларуси по земледелию.

В.В. Гринев¹, О. Хайденрайх²

**ГИБРИДНЫЕ ОНКОГЕНЫ *RUNX1-RUNX1T1*
И *KMT2A-AFF1* ЯВЛЯЮТСЯ ГЛОБАЛЬНЫМИ
РЕГУЛЯТОРАМИ СОСТОЯНИЯ ТРАНСКРИПТОМА
ЛЕЙКОЗНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА**

¹*Белорусский государственный университет,
биологический факультет*

*Республика Беларусь, 220030, г. Минск, пр. Независимости, 4
e-mail: grinev_vv@bsu.by*

²*Wolfson Childhood Cancer Research Centre, Northern Institute for
Cancer Research Newcastle University, Herschel Building, Level 6,
Brewery Lane*

*Newcastle upon Tyne, NE1 7RU, UK
e-mail: olaf.heidenreich@newcastle.ac.uk*

Хромосомные перестройки являются одними из наиболее частых генетических аномалий, ассоциированных с развитием лейкоза у человека. Среди них особо выделяется группа реципрокных негомологичных транслокаций, приводящих к образованию гибридных онкогенов. В частности, такие транслокации как t(8;21)(q22;q22) и t(4;11)(q21;q23) порождают два гибридных локуса *RUNX1-RUNX1T1* и *KMT2A-AFF1*, соответственно. Появление онкогена *RUNX1-RUNX1T1* в гемопоэтических стволовых/прогениторных клетках человека является одним из факторов инициации и формирования острого миелоидного лейкоза у детей и взрослых, а образование онкогена *KMT2A-AFF1* приводит к формированию преимущественно острого лимфобластного лейкоза у детей. Механизмы лейкозогенной активности этих онкогенов, по-видимому, разнообразны и, несмотря на длительную историю изучения, в полной мере еще не расшифрованы.

В своих исследованиях мы задались целью выяснить, каково влияние вышеуказанных онкогенов на качественный и количественный состав транскриптома лейкозных клеток. Для этого с помощью РНК-интерференции экспрессия целевых онкогенов в лейкозных клетках подавлялась, после чего по технологии RNA-Seq проводилось секвенирование транскриптома таких клеток, а полученные экспериментальные данные подвергались биоинформационному анализу.

Результаты наших исследований показывают, что влияние как онкогена *RUNX1-RUNX1T1*, так и онкогена *KMT2A-AFF1* на состояние транскриптома лейкозных клеток реализуется двумя путями: через дифференциальную экспрессию множества генов, подконтрольных этим онкогенам, а также через прямой или опосредованный контроль дифференциального сплайсинга. Так, нокдаун онкогена *RUNX1-RUNX1T1* сопровождается дифференциальной экспрессией 789 генов в лейкозных клетках и влияет на синтез 3376 отдельных транскриптов. Кроме того, изменение экспрессии этого онкогена приводит к дифференциальному сплайсингу не менее 105 транскриптов, кодируемых 95 генами. Аналогичные результаты, но в меньшем масштабе, мы наблюдали и в случае с онкогеном *KMT2A-AFF1*: его нокдаун сопровождается дифференциальной экспрессией не менее 65 генов и, кроме того, влияет на образование 73-х экзон-экзонных переходов во время сплайсинга молекул РНК 57 генов.

Таким образом, результаты нашего исследования указывают на то, что онкогены *RUNX1-RUNX1T1* и *KMT2A-AFF1* являются глобальными регуляторами состояния транскриптома лейкозных клеток человека. В свою очередь, измененное под влиянием онкогенов состояние транскриптома формирует те фенотипические особенности, которыми обладают изучаемые лейкозные клетки.

Е.В. Гузенко, Е.Н. Макеева

ПОЧЕМУ ТАК ВАЖНЫ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ?

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: E.Guzenko@igc.by, E.Makeyeva@igc.by*

Генетические ресурсы (ГР) – генетический материал растений, животных и микроорганизмов, представляющий фактическую или потенциальную ценность. ГР могут использоваться как для базовых исследований с целью понимания фундаментальных основ, так и для создания коммерческих продуктов. Сегодня в мире становятся распространёнными такие явления как «биоразведка» и «биопиратство». «Биоразведка» преследует цель выявления ГР и традиционных знаний, которые могут иметь коммерческую ценность. «Биопиратство» заключается в присвоении, патентовании и использовании в коммерческих целях без разрешения и выплаты компенсации ГР и знаний об их свойствах, которые являются традиционными знаниями аборигенных культур. От «биоразведки» и «биопиратства» страдают в основном страны Африки, Латинской Америки и Азии, в которых осуществляется сбор образцов флоры и фауны, а также сведений об их полезных качествах у местного населения. После таких акций появляется коммерческая продукция, изготовленная на основе этих ГР и знаний и приносящая выгоду многим странам, но не тем, где были собраны данные ГР или знания. Частные компании в основном руководствуются интересами собственного бизнеса, нарушая права коренных народов. В последнее время активно идёт процесс лишения аборигенных обществ прав на ГР и собственные знания, и замены этого права монопольным правом компаний на эксплуатацию биологического разнообразия. Так, патентуются стародавние сорта и технологии, при этом использование их аборигенными обществами становится невозможным без уплаты лицензионных сборов.

Нагойский протокол регулирования доступа к ГР и совместного использования выгод является новым международным договором, принятым под эгидой Конвенции о биологическом разнообразии в г.Нагойя (Япония) в 2010 г. Его цель состоит в обеспечении совместного использования на справедливой и равной

основе выгод от применения ГР и в оказании тем самым содействия сохранению и устойчивому использованию биоразнообразия. Республика Беларусь является стороной Нагойского протокола с 2014 г. Сегодня ГР могут быть получены как в естественных условиях обитания (*in situ*), так и в условиях, специально созданных человеком (ботанические сады, генетические банки, семенные фонды, коллекции *in vitro* и др.). Стремительное развитие технологий секвенирования ДНК привело к тому, что информация о ГР собирается и хранится в виде последовательностей ДНК, при этом может быть запатентована как сама база генетических данных, так и уникальная генетическая последовательность. Например, американская компания Rice Tec Inc. получила патент на генные последовательности индийского риса «басмати» и создала новые сорта, содержащие запатентованный ген, при этом Индия не имеет никаких прав на новые сорта риса и никаких денежных выгод не получает. Другой коммерческой компанией запатентованы, клонированы и выпущены на рынок экстремофильные микроорганизмы, которые были собраны в озерах Кении без разрешения местных властей и привлечения кенийских ученых. Теперь эти микроорганизмы производят промышленно значимый фермент, что приносит огромный доход индустрии и никакой прибыли Кении. Согласно Нагойскому протоколу, важно обеспечить легальный доступ к ГР и совместно (поставщик + пользователь) использовать выгоды от их применения. В идеале выгоды должны использоваться для улучшения защиты и использования биологического разнообразия без нанесения вреда окружающей среде. Предоставление доступа к ГР в обмен на совместное использование выгод может содействовать устойчивому экономическому развитию страны-поставщика ГР без ущерба для экологии.

**Н.Б. Гусина, Т.М. Егорова, Е.И. Головатая, Е.Г. Гончарова,
О.А. Громыко, Е.Ю. Ярошевич, Ю.М. Зубко,
Л.В. Подлещук, В.М. Кошкина, Н.Ю. Масловская,
Т.М. Ефимчик, Т.В. Демидович, Т.С. Зимовина,
С.О. Мясников, А.В. Зиновик, А.А. Гусина**

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА ХРОМОСОМНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ДО РОЖДЕНИЯ

РНПЦ «Мать и дитя»

*Республика Беларусь, 220053, г. Минск, ул. Орловская 66, корп. 9
e-mail: nina_gusina@tut.by*

В диагностической практике Республики Беларусь в 21 веке хромосомная патология выявляется преимущественно до рождения. По количеству цитогенетических исследований и по значимости выявляемой хромосомной патологии пренатальные исследования существенно превосходят прижизненные. Эта тенденция представляется положительной: снижается детская смертность и инвалидность, создаются предпосылки для редактирования генома плодов с анэуплоидиями на ранних сроках беременности.

Успех диагностики до рождения зависит от 2-х основных факторов: системы отбора беременных с подозрением на хромосомную болезнь плода и диагностических возможностей лаборатории.

Системность дородовой диагностике придает пренатальный скрининг. Пренатальные скринирующие программы проводятся в г. Минске с начала 90-х гг. С 1999 года выполняется комбинированный (УЗ + биохимические маркеры) скрининг в 11-13⁺⁶ недель беременности, который на 01.01.2017 прошли 221 816 женщин. Пренатальный скрининг имеет популяционный характер, охватывая более 98% беременных и оказывая влияние на частоту хромосомной патологии у новорожденных. По данным Белорусского регистра врожденных пороков, частота синдрома Дауна у новорожденных в г. Минске в 2015 году составила 1: 3078, в то время как в 80-е годы – 1:830. Такое значимое снижение частоты трисомии 21 у новорожденных, несмотря на изменения возрастного состава беременных (женщины старше 35 лет составляли 14% в 2016 г. против 4,8% в 80-е гг.), является прямым следствием успешного осуществления пренатального скрининга.

За последние 20 лет в РНПЦ «Мать и дитя» проведено более 56 000 цитогенетических исследований плодного материала, что позволило диагностировать почти 3000 анеуплоидий. Кроме методов «классической цитогенетики» в последние годы применяются методы молекулярной цитогенетики, количественная флуоресцентная ПЦР (QF-PCR), мультиплексная амплификация лигированных зондов (MLPA). Методом QF-PCR обследовано 525 плодов, выявлено 37 анеуплоидий по 13, 18 и 21 хромосомам, а также половым хромосомам. Метод MLPA использовался для скрининга на микроделеционные синдромы. Актуальная панель включала пробы на 15 микроделеционных синдромов, имеющих высокую диагностическую значимость. Исследовано 192 образца, диагностировано 8 случаев синдромов микроделций и микродупликаций, которые невозможно было бы выявить «классическими» методами.

Таким образом, в нашей стране создана эффективная, бесплатная и доступная каждой женщине система пренатального скрининга и дородовой диагностики хромосомных болезней. Мы также надеемся, что создали предпосылки для будущего постепенного перехода к неинвазивной пренатальной диагностике и полноэкзомному секвенированию для групп повышенного риска по патологии плода.

А.А. Гусина, С.О. Мясников, Н.Б. Гусина

НОВАЯ МУТАЦИЯ В ГЕНЕ ФИБРИЛЛИНА 1, АССОЦИИРОВАННАЯ С РАСШИРЕНИЕМ АОРТЫ И РАЗВИТИЕМ СИНДРОМА МАРФАНА

Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя»
Республика Беларусь, 220053, г. Минск, ул. Орловская, 66
e-mail: asya_gusina@mail.ru

Ген фибриллина 1 (*FBN1*) кодирует синтез белка фибриллина 1, который является компонентом микрофибрилл экстрацеллюлярного матрикса. *FBN1* расположен на длинном плече хромосомы 15 в сегменте q21.1 Это один из самых крупных генов человека: полная копия гена включает в себя 65 экзонов, соответствующий транскрипт имеет размер около 10 000 п.о. *FBN1* был описан в 1991 году, когда было показано, что повреждения этого гена являются причиной развития синдрома Марфана (СМ). Позднее мутации *FBN1* были обнаружены при других наследственных заболеваниях соединительной ткани, сходных по фенотипическим проявлениям с синдромом Марфана, что позволило объединить все эти нозологии в единую группу с общим названием фибриллинопатии 1 типа. Необходимость дифференциальной диагностики СМ от других фибриллинопатий 1 типа обусловлена высокой вероятностью развития угрожающих жизни осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы (расслаивающейся аневризмы аорты) у пациентов с этой патологией. Диагностика СМ основывается на Гентских критериях, последний пересмотр которых состоялся в 2010 году. В соответствии с пересмотренной Гентской нозологией, обнаружение мутаций в гене *FBN1* является столь же значимым критерием для установления диагноза СМ, как и выявление основных клинических признаков синдрома: эктопии хрусталика и расширения аорты. В частности, повреждение *FBN1*, ассоциированное с патологией аорты, позволяет обосновать диагноз СМ у лиц с эктопией хрусталика даже при отсутствии поражения аорты. Таким образом, сведения о мутациях *FBN1*, при которых наблюдается расширение (расслоение) аорты, приобретают особую значимость.

В этой работе мы сообщаем о ранее не описанной мутации в 38 экзоне *FBN1* с. 4640_4641insA, приводящей к сдвигу рамки считывания р. Thr1547Asnfs*5. Мутация выявлена в гете-

розиготном состоянии у пациентки, которой диагноз СМ был установлен в возрасте 23 лет, когда ей была выполнена операция протезирования аортального клапана и восходящей аорты. К врачу-генетику пациентка обратилась во время беременности с целью оценки риска передачи заболевания потомству. Для поиска мутаций в гене *FBN1* использовали анализ конформационного полиморфизма однонитевой ДНК (SSCP). Идентификация мутации осуществлена методом секвенирования по Сэнгеру. Пациентка отрицала случаи СМ в семье, в связи с чем можно сделать заключение, что обнаруженное повреждение является мутацией *de novo*. Риск передачи мутации и развития СМ у детей пациентки установлен равным 50% ввиду аутосомно-доминантного типа наследования СМ.

Молекулярно-генетическая диагностика СМ – сложная задача, поскольку при этом заболевании мутации *FBN1* не имеют преимущественной локализации в специфических точках гена или явной фенотипической ассоциации. Базы данных о мутациях *FBN1* содержат сведения о более чем 3000 повреждений. В большинстве случаев эти мутации представлены единичными наблюдениями или уникальны. Мелкие инсерции – редкий тип повреждений гена *FBN1*, эти мутации составляют не более 3-4% всех изменений *FBN1*. В соответствии с данными Universal Mutation Database, описанная нами мутация в настоящее время является единственной однонуклеотидной вставкой в 38 экзоне *FBN1*, ассоциированной с патологией аорты, потребовавшей хирургической коррекции.

З.Б. Давлятназарова

**РАЗРАБОТКА СКРИНИНГ-ТЕСТА НА
СОЛЕУСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ
*IN VITRO***

*Институт ботаники, физиологии и генетики растений
АН Таджикистана*

*Республика Таджикистан, 734069, г. Душанбе, ул. Айни, 299/2
e-mail: zulfiyad@gmail.com*

Селекция культурных растений, устойчивых к солевому фактору, связана с поиском физиологических и биохимических признаков солеустойчивости растений и разработкой на их основе тест-признаков, которые позволят отбирать солеустойчивые формы в короткие сроки. Как известно, засоление ведет к быстрому ингибированию ростовых процессов, как солеустойчивых, так и сочувствительных растений. Различия между ними по скорости роста можно выявить только через несколько недель после начала действия засоления, так как на начальном этапе проявления стрессорного воздействия наблюдается осмотический шок, и только спустя некоторое время, растение проявляет свои защитные механизмы от токсического действия ионов. В настоящее время существует стандартная оценка на солеустойчивость растений по ростовой реакции, которая требует больших трудозатрат и площадей для выращивания, кроме того является длительной по времени. Кроме того, имеющиеся различные данные о начале проявления признаков солеустойчивости при оценке ростовой реакции неоднозначны.

Поиск и разработка новых, инновационных подходов, а именно, применение биотехнологических методов, в частности метода культивируемых клеток растений *in vitro* для отбора устойчивых генотипов сельскохозяйственных растений, является актуальным и перспективным.

Культура клеток *in vitro* дает возможность анализировать цепи метаболических реакций и трансформаций веществ и выявлять наиболее существенные, связанные с солеустойчивостью и использовать их в качестве тест-признаков для отбора солеустойчивых форм и линий.

Международный центр картофеля СИП, Перу предоставил более 80 клон-гибридов картофеля в культуре *in vitro*, в связи

с чем, задачей исследования был отбор и разработка ускоренного метода или скрининг-теста на солеустойчивость.

Для этого отрезки междоузлий растений-регенерантов картофеля культивировались в питательной среде Мурасиге-Скуга, содержащей различные концентрации хлористого натрия. Отбор проводился по следующим параметрам: выживаемость растений, высота растений, сырая масса, длина междоузлий, количество и длина корней, содержание хлорофилла (a+b) и клубнеобразование *in vitro*.

Исследования показали, что для предварительного отбора и оценки большого количества гибридов картофеля *in vitro* достаточно использовать такие параметры, как выживаемость, высота растения и корнеобразование в совокупности, как тест-признаки, что может значительно сократить сроки отбора растений на устойчивость для их дальнейшего применения в селекционном процессе.

Испытание отобранных *in vitro* клон-гибридов картофеля *in vivo* показало, что клоны, обладающие устойчивостью к засолению в лабораторных условиях, также обладали устойчивостью и при выращивании их в почвах, содержащих повышенную концентрацию соли.

Кроме того, были изучены некоторые биохимические параметры устойчивости к повышенным концентрациям соли для подтверждения устойчивости отобранных клон-гибридов на эндогенном уровне.

С.Е. Дромашко

ЭЛЕКТРОННЫЕ СПРАВОЧНО-ИНФОРМАЦИОННЫЕ РЕСУРСЫ ДЛЯ ХРАНЕНИЯ И АНАЛИЗА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДАННЫХ

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: S.Dromashko@igc.by*

В докладе рассматриваются молекулярные методы оценки генетического разнообразия и построенные на их основе справочно-информационные ресурсы для паспортизации рыб (карп белорусской селекции, осетровые и продукция из них и т.п.).

В настоящее время генотипическая регистрация микроорганизмов, растений и животных становится все более актуальной. Процесс определения генотипа индивидуума осуществляется с использованием множества молекулярно-генетических методов (маркеров). В докладе кратко описываются некоторые обычно используемые типы генетических маркеров: RFLP, SSLP, AFLP, RAPD, VNTR, SSR, SNP, STR, SFP, DA_rT, RAD и т.д.

В исследованиях лаборатории моделирования генетических процессов для изучения генетического разнообразия и паспортизации или сертификации рыб применялись методы RAPD- и SSR-анализа. С использованием их результатов разработаны и зарегистрированы в качестве информационных ресурсов справочно-информационные системы «Применение молекулярно-генетического анализа для установления видовой (популяционной) принадлежности рыб семейства осетровых и продукции из них» (2016 г.) и «Молекулярно-генетический анализ в паспортизации пород карпа *Cyprinus carpio* L. белорусской селекции» (2017 г.).

В настоящее время в рамках подпрограммы «Структурная и функциональная геномика» государственной программы научных исследований «Биотехнологии» начаты работы по использованию ДНК-штрихкодирования для идентификации видов водных животных (моллюски, ракообразные). Эти результаты также будут оформлены в виде справочно-информационных ресурсов.

ДНК-штрихкодирование – это система быстрой и точной идентификации видов, которая позволяет использовать короткую последовательность нуклеотидов вместо всего генома.

Генетические маркеры представляют собой короткую последовательность ДНК, полученную из стандартной области генома. Эти маркеры отличаются для различных видов: цитохром с-оксидаза I COI – для животных, хлоропласт-матураза K + рибулоза-1,5-бисфосфаткарбоксилат – для растений и внутренний транскрибированный спейсер – для грибов.

ДНК-штрихкодирование имеет множество применений в различных областях, таких как сохранение природных ресурсов, защита исчезающих видов, борьба с сельскохозяйственными вредителями, контроль качества воды, установление подлинности продуктов здорового питания, идентификация лекарственных растений. Преимуществом ДНК-штрихкодирования также является возможность идентификации на всех этапах развития животного или растения, использования для этого фрагментов / продуктов организмов, содержимого желудка (в случае животных) и т.д.

Для накопления и использования огромных массивов данных по ДНК-штрихкодированию в Центре геномного биоразнообразия (Канада) разработана система BOLD – облачный информационный ресурс, в котором в настоящее время содержатся данные о 178 308 видах животных, 65 773 растений, 20 901 грибов и других видах.

Н.И. Дубовец, Е.А. Сычева, Н.И. Дробот, Е.Б. Бондаревич,
Л.А. Соловей

ХАРАКТЕРИСТИКА ПО КОМПЛЕКСУ ПРИЗНАКОВ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ ОВСА ПОСЕВНОГО *Avena sativa* L. МЕТОДОМ ОТДАЛЕННОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси,
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: N.I.Dubovets@igc.by*

Использование в селекции овса посевного (*Avena sativa* L.) дикорастущих сородичей связано с наличием у них ряда ценных признаков, включающих высокое содержание белка и жира в зерне, крупнозерность, устойчивость к корончатой и стеблевой ржавчине, мучнистой росе, септориозу, бурому бактериозу, толерантность к вирусу желтой карликовости ячменя, повышенную засухоустойчивость и морозостойкость. Особый интерес для селекционных программ представляют дикорастущие гексаплоидные виды овса, которые имеют аналогичную *A. sativa* геномную структуру (AACDD), что гарантирует получение в скрещиваниях фертильных гибридных форм. В настоящем исследовании в качестве источника генов устойчивости к корончатой и стеблевой ржавчине будет использован дикорастущий гексаплоидный вид *Avena sterilis* L. В сообщении представлены результаты оценки по ряду признаков исходных родительских форм – 6 высокопродуктивных возделываемых в Республике Беларусь сортов *A. sativa* и 13 образцов *A. sterilis* из мировой коллекции ВИР.

Поскольку оценка цитологической стабильности является важной составляющей работ по созданию межвидовых гибридов, у сортов овса посевного, включенных в исследование в качестве материнских компонентов гибридизации, изучены особенности поведения хромосом на различных стадиях микроспорогенеза. Показана высокая цитологическая стабильность (мейотический индекс 95,10-100%) подавляющего большинства проанализированных сортов. Исключение составил сорт белорусской селекции Фристайл, который отличался низким уровнем общей цитологической стабильности (мейотический индекс – 55,00%) и существенными различиями по уровню цитологической стабильности между индивидуальными растениями на отдельных

стадиях мейоза. С использованием SSR-маркеров изучен генетический полиморфизм сортов *A. sativa* L. на молекулярном уровне. Установлено, что количество аллелей на исследованный локус колеблется от 2 до 4. Сорта белорусской селекции Фристайл и Лидия мономорфны по всем шести исследованным локусам. Сорта Мирт и Запавет имеют аналогичный им аллельный состав по локусу AM1, но отличаются по составу других локусов. Сорт немецкой селекции Айвори отличается от сортов белорусской селекции по аллельному составу локусов AM1, AM3, AM4, M15, а сорт польской селекции Бинго – по составу локусов AM1 и AM15. Большинство сортов характеризуются одновариантным составом микросателлитных локусов. Для сорта Мирт выявлены по 2 варианта микросателлитных локусов AM4 и AM15. Сорт Запавет несет 2 варианта локуса AM7. У образцов *A. sterilis* L. различного географического происхождения исследована устойчивость к стеблевой и корончатой ржавчине в условиях Беларуси. Установлено, что образцы EN 2145, С.І. 8387, PI 287211, F 169, F 290, С.І. 8081, CW 486 характеризуются высокой устойчивостью к болезням и достоверно превосходят по этому показателю сорт-стандарт Запавет.

Полученные данные будут использованы для сравнительной характеристики межвидовых гибридов, созданных путем скрещивания сортов *A. sativa* с дикорастущими образцами *A. sterilis*.

Н.И. Дубовец¹, Е.А. Сычева¹, Н.И. Дробот¹,
Е.Б. Бондаревич¹, Л.А. Соловей¹, О.Г. Силкова²

**АНАЛИЗ АЛЛЕЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГЕНОВ
ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫХ ПРИЗНАКОВ
У ИНТРОГРЕССИВНЫХ ДИСОМНЫХ ЛИНИЙ
*TRITICUM AESTIVUM/SECALE CEREALE***

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: N.I.Dubovets@igc.by

²Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН
Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 10

Одним из основных методов расширения генетической изменчивости *Triticum aestivum* L. является отдаленная гибридизация с видами и родами трибы *Triticeae*, позволяющая наиболее эффективно обогащать генофонд культуры. В частности, широкое применение в программах по селекции пшеницы нашла гибридизация с рожью (*Secale cereale* L.). На сегодняшний день накоплен большой опыт создания и изучения интрогрессивных пшенично-ржаных форм с разнообразным геномным составом. Тем не менее, ни научный, ни селекционный потенциал данного направления далеко не исчерпан.

В сообщении представлены результаты ДНК-типирования генов, ассоциированных с формированием короткостебельности (*Rht-B1*, *Rht-D1*, *Rht8*), устойчивости к предуборочному прорастанию (*Vp-1B*) и хлебопекарных качеств (*Glu-D1*), у 8 пшенично-ржаных замещенных линий (ПРЛ), созданных в Институте цитологии и генетики СО РАН, с целью оценки их селекционного потенциала.

В ходе предварительного анализа геномной структуры ПРЛ с использованием метода С-бэндинга были подтверждены полученные ранее данные (Силкова и др., 2006), что свидетельствует о высокой цитологической стабильности гибридных форм. Показано, что линии ПР3-1 и ПР3-2 несут 1R(1A)-замещение хромосом (у первой линии хромосома 1R интродуцирована от сорта ржи Вятка, у второй, как и у всех остальных линий – от сорта Онохойская). Линии ПР3-3, ПР3-4 и ПР3-5 содержат 2R(2D)-замещение хромосом. Линия ПР3-6 несет 3R(3B)-, а ПР3-7 – 5R(5A)-замещение хромосом, линия ПР3-8 содержит

6R(6A)-замещение хромосом. Принимая во внимание сложную геномную структуру пшенично-ржаных замещенных линий, наличие точной информации о хромосомном составе образцов позволило целенаправленно использовать ПЦР-маркеры при идентификации аллельного состояния генов хозяйственно-ценных признаков. Установлено, что все включенные в исследование генотипы содержат дикий аллель гена *RhtB1*(*RhtB1a*) в гомозиготном состоянии, а также в подавляющем большинстве являются гетерозиготными по аллельному составу гена *Rht-D1* (*Rht-D1a*/*Rht-D1b*). ДНК-типирование гена *Rht8*, локализованного на хромосоме 2D, проведенное у 5 ПРЛ (за исключением линий с 2R(2D)-замещениями), показало наличие аллеля *Rht8b* (174 п.н.). ПЦР с кодоминантными ДНК-маркерами UMN25 и UMN26 выявила отсутствие у включенных в анализ пшенично-ржаных линий целого аллеля *Glu-D1d*, ассоциированного с упругим тестом и хорошими хлебопекарными свойствами. ДНК-типирование гена *Vp-1B* у генотипов, содержащих хромосому 3B (за исключением ПРЗ-6), показало наличие в гомозиготном состоянии аллеля *Vp-1Bc*, ассоциированного с устойчивостью к предуборочному прорастанию зерна.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (Договор № Б15СО-030).

Ю.В. Дюбо, Е.А. Николайчик

**ПЛАЗМИДНЫЙ КОМПОНЕНТ ГЕНОМА
МОДИФИЦИРУЕТ ВИРУЛЕНТНЫЕ СВОЙСТВА
*PECTOBACTERIUM ATROSEPTICUM***

*Белорусский государственный университет
Республика Беларусь, 220030, г. Минск, пр. Независимости, 4
e-mail: yuliyadiubo@gmail.com*

Pectobacterium atrosepticum – граммотрицательные энтеробактерии, способные вызывать заболевания картофеля – «черную ножку» и мягкую гниль. Штамм 21А, в отличие от большинства других *P. atrosepticum*, индуцирует реакцию сверхчувствительности у растений табака *Nicotiana tabacum*. При секвенировании генома *P. atrosepticum* 21А было обнаружено два репликона – хромосомный и плазмидный (коды доступа в GenBank – CP009125 и CP009126). Последовательности хромосом *P. atrosepticum*, присутствующие в GenBank, имеют очень высокое сходство (98% и более) и практически идентичны по содержащемуся в них набору генов (за исключением генов транспозонов и бактериофагов), в связи с чем мы предположили, что способность бактерий штамма 21А вызывать реакцию сверхчувствительности связана именно с наличием плазмиды, и провели анализ последовательности этой плазмиды, а также начали экспериментальное исследование ее свойств.

rPA21A имеет размер 32 444 н.п. и присутствует в клетке в количестве 3-4 копий. Стабильное поддержание этой низкокopiesной плазмиды в клетках обеспечивается двумя системами токсин-антитоксин, а распространение rPA21A в популяции пектобактерий может происходить конъюгативно за счет секреторной системы IV типа (CC4T), гены которой занимают чуть менее половины последовательности плазмиды. Инсерция гена гентамицинрезистентности в межгенный участок позволила контролировать присутствие маркированного репликона в клетках и исследовать его конъюгативный перенос. Внутривидовые (между штаммами *E. coli*) и межродовые (между *E. coli* и *Pectobacterium spp.*) скрещивания показали способность плазмиды к конъюгативной передаче с частотами в диапазоне 10^{-4} – 10^{-3} . Индукция SOS-ответа у донора увеличивает частоту передачи плазмиды в 10 раз, что пред-

положительно связано с обнаруженным сайтом связывания регуляторного белка LexA перед кластером генов системы секреции IV типа.

Анализ последовательности плазмиды выявил как минимум два гена (*pld* и *sir*), продукты которых способны оказывать непосредственное влияние на взаимодействие с растениями. Кодированная первым из них фосфолипаза D расщепляет липиды с освобождением фосфатидной кислоты – известного вторичного посредника в индукции иммунного ответа, в том числе реакции сверхчувствительности. Сиртуин-подобный продукт гена *sir* может оказывать влияние на экспрессию генов растения и менять его иммунный статус. Кроме того, три кодируемых плазмидой транскрипционных регулятора также могут влиять на вирулентные свойства патогена путем контроля экспрессии других факторов вирулентности. Конъюгативный перенос рРА21А::Gm в клетки штамма *P. atrosepticum* SCRI 1043 придает последним способность индуцировать реакцию сверхчувствительности у растений *N. tabacum*, что свидетельствует о существенном влиянии плазмиды на вирулентные свойства бактерий и является первым свидетельством такого рода для пектобактерий.

Д.П. Ермакович, Л.Н. Сивицкая, Т.Г. Вайханская,
Т.В. Курушко, Н.Г. Даниленко, О.Г. Давыденко

ПОИСК МУТАЦИЙ В ГЕНЕ *LMNA* У ПАЦИЕНТОВ С ДИЛАТАЦИОННОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ МЕТОДОМ NGS

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: cytoplasmic@mail.ru

Ламины участвуют в регуляции формы ядра, экспрессии генов и клеточного цикла. Мутации в гене ламинов А-типа (*LMNA*) могут вызывать развитие дилатационной кардиомиопатии (ДКМП). Это заболевание характеризуется расширением полости левого желудочка со снижением его сократительной функции. Кроме изолированной формы ДКМП, встречаются синдромальные формы, связанные с *LMNA*-связанными мышечными дистрофиями.

Методом NGS с использованием набора Nextera XT (Illumina Inc., USA) был выполнен поиск мутаций в гене *LMNA* у 18 пациентов с ДКМП. У 12 человек были выявлены 13 различий с референсной последовательностью этого гена. Из них 11 однонуклеотидных замен были классифицированы как непатогенные. В популяции человека они встречаются с частотой более 1%, по данным 1000 Genomes, ExAC, TOPMED. У 6 человек не обнаружено никаких изменений в *LMNA*.

У двух неродственных пациентов были выявлены замены с.565C>T (rs267607626) и с.745C>G (rs121912496). Данные мутации приводят к замещению аминокислотных остатков в белке – р.Arg189Trp и р.Arg249Gly соответственно.

У пациента N (муж.), носителя замены р.Arg189Trp, симптомы ДКМП манифестировали в возрасте 36 лет. Заболевание быстро прогрессировало в виде тяжелой сердечной недостаточности, и через 18 месяцев пациенту была выполнена трансплантация сердца. Семейная история отягощена: два старших брата с ДКМП умерли в возрасте 28 и 31 года; отец умер внезапно в возрасте 45 лет.

Пациентка F (жен.), носительница замены р.Arg249Gly, с детства страдала мышечной дистрофией. Первые симптомы ДКМП появились в 24 года. Определение генетической причины

развития сердечной патологии позволило уточнить диагноз пациентки – конечностно-поясная мышечная дистрофия типа 1В. Быстро-прогрессирующий характер заболевания не позволил пациентке дожидаться пересадки сердца, она умерла в возрасте 25 лет. Семейный анамнез отягощен: отец умер от ДКМП в возрасте 24 лет. Однако выяснить точный характер возникновения р.Arg249Gly (спорадический или семейный) не представляется возможным из-за отсутствия родственников.

Мы считаем, что выявленные замены являются патогенными вариантами гена *LMNA*, ассоциированными с развитием ДКМП. Их частота в популяции человека ниже 0,05%. Обе мутации ранее были описаны у пациентов с *LMNA*-зависимыми мышечными дистрофиями или изолированными ДКМП. Анализ их семейных случаев демонстрировал положительную сегрегацию по патологическому фенотипу у носителей мутаций. Замена р.Arg249Gly локализуется в “hot spot”: в базе данных The Human Intermediate Filament Database зарегистрировано 23 случая носительства патогенных мутаций в кодоне 249. Они ассоциированы, главным образом, с мышечными дистрофиями (80% от общего числа зарегистрированных случаев мутаций; замены на Trp или Gln) и ДКМП (20% от общего числа; замены на Trp). Предсказана патогенная роль выявленных нами мутаций *in silico*.

Д.Д. Жадько, В.В. Зинчук

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА, ОТВЕТСТВЕННОГО ЗА ОБРАЗОВАНИЕ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ СИНТАЗЫ МОНООКСИДА АЗОТА

*Гродненский государственный медицинский университет
Республика Беларусь, 230009, г. Гродно, ул. Горького, 80
e-mail: zhadzko@mail.ru*

Монооксид азота (NO) – сигнальная молекула, обеспечивающая в организме нормальное протекание значительного количества биологических процессов. В этой связи представляет интерес изучение молекулярно-генетических структур, ответственных за метаболизм данного соединения. В экзонах и интронах гена эндотелиальной синтазы оксида азота выявлен ряд полиморфных участков, обуславливающих уменьшение концентрации NO в плазме крови, а именно полиморфизмов G894T и T786C. Целью исследования явилась оценка распределения частот аллелей и генотипов полиморфизмов G894T и T786C гена *NOS3* у жителей г. Гродно.

Объектом исследования явились здоровые молодые мужчины 18-24 лет (n=79). Определение полиморфных вариантов G894T и T786C проводили методом полимеразной цепной реакции на амплификаторе Rotor Gene-Q (Qiagen, Германия). Распределение частот генотипов исследуемых полиморфных локусов проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга с помощью критерия χ^2 Пирсона. Статистический анализ проводили общепринятыми методами с помощью программного обеспечения Statistica, Microsoft Excel.

Анализ полученных данных показал, что распределение полиморфных вариантов изучаемого гена в данной выборке не отклоняется от равновесия Харди-Вайнберга. При изучении частот распределения аллелей полиморфизма G894T установлено, что из 79 испытуемых у 93,7% в генотипе присутствует аллель G, в то время как аллель T наличествует у 50,6% добровольцев. Оценка распределения частот аллелей полиморфизма T786C гена *eNOS-3* у данной категории испытуемых показала, что у 84,8% добровольцев в генотипе имеется аллель T, в то время как аллель C был найден в генотипе 63,3% испытуемых. Гомозиготный доминантный генотип (GG) полиморфизма G894T имеется у 49,4%

выборки, гетерозиготный генотип был определен у 44,3% тестируемых лиц, а частота встречаемости рецессивного гомозиготного генотипа (ТТ) у данного контингента составляет всего 6,3%. Оценка частоты распределения генотипов полиморфизма Т786С у лиц, участвовавших в исследовании, показала, что гомозиготный генотип, включающий два доминантных аллеля Т, присутствует у 36,7% обследуемых, гетерозиготный генотип у данного контингента встречается в 48,1% от всех изучаемых образцов крови, а генотип, имеющий два рецессивных аллеля С, – всего у 15,2% мужчин данной выборки.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что распределение частот аллелей и генотипов полиморфных вариантов G894Т и Т786С гена эндотелиальной NO-синтазы в исследуемой популяции сопоставимы с данными аналогичных исследований с участием испытуемых, проживающих в других регионах. Особенности полиморфизмов указанного гена необходимо учитывать при оценке риска развития заболеваний и физиологических возможностей организма человека. Дальнейшее исследование генетических факторов важно для понимания механизмов, формирующих аэробный метаболизм организма.

Е.В. Железнякова, Е.В. Гузенко, В.А. Лемеш

САЙТ-СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ВСТАВКА LIS-1

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: E.Zheleznyakova@igc.by*

Одним из главных механизмов защиты растений от воздействия стрессовых факторов является высокая пластичность генома соматических клеток при индивидуальном развитии организма. Под термином «генетическая пластичность» подразумевают образование новых генотипических и фенотипических комбинаций с определенной популяционной частотой. Генетическая пластичность обеспечивает приспособляемость к новым условиям внешней среды.

Лен относится к растениям, обладающим «пластичным» геномом. При адаптации к низкому содержанию питательных веществ у некоторых форм льна происходят наследуемые изменения. На протяжении трех десятилетий группа ученых под руководством С.А. Cullis изучает наследственные изменения у льна, которые являются следствием воздействия стрессовых условий окружающей среды. В экспериментальных работах показано, что изменение питательных веществ в почве при выращивании льна приводит к немедленным фенотипическим изменениям, которые сопровождаются геномными перестройками. К числу данных изменений относится обнаруженная первоначально у генотрофов сорта Stormont Citrus однокопийная вставка LIS-1 размером 5,7 kb, которая собирается из коротких нуклеотидных последовательностей, рассредоточенных по геному, и встраивается в единичной копии в определенный сайт. При этом сам сайт претерпевает значительные изменения, связанные с появлением однонуклеотидных замен, вставок и делеций, неизменными остаются только области кодирующих последовательностей фланкирующих генов. В целом структура LIS-1 значительно отличается от известных мобильных элементов, и её встройка происходит иным путем, чем «cut and paste» или «copy and paste», характерным для транспозонов. Механизмы наследования вставки малоизучены. Показано, что существуют генотипы, у которых вставка LIS-1 стабильно наследуется вне зависимости от условий и фенологических фаз развития растения.

Нами проанализировано 190 индивидуальных растений льна (сорта льна-долгунца и льна масличного европейской и белорусской селекции, стародавние сорта, дикий вид *L. angustifolium*). Наибольшее количество вставок LIS-1 обнаружено у индивидуальных растений стародавних сортов: 19 из 80 проанализированных. Инсерция LIS-1 обнаружена у трёх сортов льна-долгунца (А-29, Белита, Liral Prince), причем индивидуальные растения сортов Liral Prince (Канада) и Белита (РБ) в 90–100% случаев содержали вставку LIS-1. В геноме индивидуальных растений сортов льна масличного (Alaska (Франция), Oliver (Франция)) и вида *L. angustifolium* вставка LIS-1 не обнаружена. Современные данные свидетельствуют о том, что клетки растений, культивируемые в условиях *in vitro*, подвергаются генетическим изменениям, частота которых достаточно велика. Возникающая соматональная изменчивость является источником генетического разнообразия, в том числе возникновением «полезных» мутаций, связанных с адаптацией к неблагоприятным факторам окружающей среды. Нами обнаружена вставка LIS-1 у растений-регенерантов сорта Ива, при этом в исходном сорте амплифицировать её не удалось. Доказать, что появление вставки LIS-1 имеет отношение к стресс-связанной реструктуризации генома, достаточно сложно, однако генотипы, имеющие вставку LIS-1, заслуживают особого внимания при дальнейших исследованиях механизмов адаптации льна к неблагоприятным факторам внешней среды. Оригинальностью данного события является и то, что происходит оно в ответ на решение конкретных проблем роста и может быть стабильно передано потомству.

С.И. Ивановская, Д.И. Каган, В.Е. Падутов

СОПРЯЖЕННОСТЬ УРОВНЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО И КЛОНОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ В ЛЕСОСЕМЕННЫХ ПЛАНТАЦИЯХ ВТОРОГО ПОРЯДКА СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

*Институт леса НАН Беларуси
Республика Беларусь, 246001, г. Гомель, ул. Пролетарская, 71
e-mail: isozyume@mail.ru*

Одним из важнейших аспектов при создании лесосеменных плантаций второго порядка (ЛСП II порядка) является вопрос, обеспечивают ли они уровень генетического разнообразия, характерный для природных популяций? Не происходит ли в результате использования семян с ЛСП обеднение генофонда создаваемых насаждений?

Изучение 21 ЛСП II порядка сосны обыкновенной на основе метода изоферментного анализа по 20 локусам показало, что параметры средней гетерозиготности имеют широкий диапазон значений. Величина средней ожидаемой гетерозиготности (H_e) варьирует от 18,8 до 25,3%, в среднем составляя 23,5%; средней наблюдаемой гетерозиготности (H_o) – от 17,6 до 28,4%, в среднем составляя 24,0%.

Лесосеменные плантации II порядка, проанализированные нами, созданы с использованием различного количества клонов – от 12 до 79. Нами была рассмотрена зависимость величины наблюдаемой гетерозиготности от количества клонов, представленных в ЛСП. Проведенная кластеризация методом полной связи исследованных плантаций по этим двум параметрам показала, что они разбиваются на два кластера. В первый кластер вошли девять ЛСП с количеством представленных на них клонов от 12 до 24. Среднее значение гетерозиготности для этого кластера составило 0,227. Второй кластер составляют 11 плантаций с количеством клонов от 39 до 79. Исключением является одна лесосеменная плантация, представленная 23 клонами. Среднее значение гетерозиготности для этого кластера равно 0,243.

Получив разделение исследованных плантаций на два кластера с использованием метода полной связи, мы оценили достоверность группировки ЛСП при помощи дополнительной кластеризации методом k средних. Проведенная кластеризация

на основе данного метода также показала, что исследованные плантации формируют две достоверно различающиеся группы (для показателя наблюдаемой гетерозиготности $F = 5,172$; $p = 0,035$; для показателя количества клонов – 28,267 и 0,000047 соответственно). Однако состав их несколько отличается от кластеров, полученных на основе метода полной связи. Первая группа состоит из 11 ЛСП с количеством клонов от 12 до 45. Среднее значение гетерозиготности для этого кластера составило 0,224. Во вторую группу объединились лесосеменные плантации, которые представлены 47–79 клонами и одна плантация, заложенная 23 клонами. Среднее значение гетерозиготности для этого кластера составило 0,249, что соответствует среднему значению наблюдаемой гетерозиготности для древостоев сосны обыкновенной естественного происхождения лесов хозяйственного использования Беларуси (0,247) и достоверно превышает среднее значение для второй группы.

Таким образом, проведенный анализ с использованием различных методов кластеризации показал, что при закладке ЛСП II порядка для уменьшения размаха генетических показателей на лесосеменной плантации должно быть представлено не менее 50 клонов плюсовых деревьев. Полученные результаты дополнительно подтверждают требование СТБ 1709-2006 по лесному семеноводству о том, что при незнании генетических параметров плюсовых деревьев среднее количество клонов при закладке должно быть не менее 50. Соблюдение данного требования должно обеспечить сохранение генетического потенциала в создаваемых лесных культурах.

Б.В. Ивашук¹, Я.В. Пирко¹, Н.А. Козуб^{1,2}, И.А. Созинов^{1,2},
А.В. Карелов^{1,2}, А.А. Созинов¹, Я.Б. Блюм¹

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ УСТОЙЧИВОСТИ ПШЕНИЦЫ К РАЗЛИЧНЫМ ВИДАМ РЖАВЧИНЫ

¹Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины
Украина, 04123, г. Киев, ул. Осиповского, 2А
e-mail: blume.yaroslav@nas.gov.ua

²Институт защиты растений НААН Украины
Украина, 03022, г. Киев, ул. Васильковская, 33

Грибы рода *Puccinia*, особенно такие виды, как *P. graminis*, *P. triticina* (*recondita*) и *P. striiformis*, способны поражать ценные сельскохозяйственные злаки – пшеницу, ячмень, рожь, овес. Во время эпифитотий они вызывают значительную, а иногда и полную потерю урожая. Перечисленные виды включают значительное количество подвидов, которые в свою очередь разделяют на расы (штаммы) в зависимости от их вирулентности. Сейчас наиболее эффективным способом защиты посевов злаков от этих патогенов считают создание устойчивых сортов, несущих соответствующие гены устойчивости. Однако постоянно появляются новые расы *Puccinia*, способные заражать сорта, до этого известные как устойчивые к данным патогенам.

Наиболее показательным примером является появление в Уганде в 1999 г. штамма Ug99 гриба *P. graminis f. sp. tritici*, вызывающего стеблевую ржавчину. Этот штамм преодолел устойчивость широко распространенного гена *Sr31* и стал причиной значительных потерь урожая в Уганде, Кении и Эфиопии. Кроме этого, за последние 17 лет было обнаружено 12 новых штаммов, происходящих от Ug99, причем против части из них оказались неэффективными такие гены, как *Sr24*, *Sr36* и *SrTmp*. В дополнение к этому, совсем недавно в Италии была обнаружена новая раса *Puccinia* – ТТТТF (не связанная с Ug99), которая вызвала локальную эпифитотию, охватившую несколько тысяч гектаров посевов пшеницы на Сицилии. Следует отметить, что для *P. striiformis*, вызывающей желтую (полосатую) ржавчину, тоже характерно появление новых высокоагрессивных рас. Так, недавно в Европе были выявлены новые агрессивные штаммы этого гриба: Kranich, Warrior и Triticale aggressive. Все они про-

исходят из популяций пригималайского региона, являющегося центром возникновения новых штаммов *P. striiformis*. Три вышеперечисленные расы за последние семь лет вытеснили большинство европейских штаммов и сейчас продолжают распространяться по европейскому континенту.

На сегодняшний день нами была проанализирована значительная часть украинских сортов мягкой пшеницы на наличие генов устойчивости к листовой и желтой ржавчине. Хотя листовая ржавчина, вызываемая грибом *P. triticina*, не представляет серьезной угрозы в Украине, в годы эпифитотий она, как и стеблевая и желтая ржавчина, способна наносить значительный ущерб. В частности, результаты анализа 51 сорта пшеницы одесской селекции свидетельствуют о том, что 31 из них содержит аллель гена *Lr34(+)* устойчивости к *P. triticina*, а результаты анализа 30 сортов пшеницы селекции Мироновского института пшеницы НААН Украины и Института физиологии растений и генетики НАН Украины (районированных в лесостепной зоне) обнаружили, что только 5 из них содержат аллель *Lr34(+)*. Результаты же проведенного анализа 22 сортов пшеницы, часть из которых продемонстрировала устойчивость к желтой ржавчине в полевых условиях, свидетельствуют о том, что ни один из них не содержит генов *Yr10* и *Yr36*, являющихся эффективными против таких рас желтой ржавчины, как *Kranich* и *Warrior*. Практически та же самая ситуация наблюдается при анализе сортов пшеницы украинской селекции на наличие генов устойчивости к стеблевой ржавчине. Тем самым обнаружено лишь небольшое количество сортов пшеницы с общераспространенными генами устойчивости к различным видам грибов, вызывающим ржавчину. Это указывает на необходимость дополнительного молекулярно-генетического анализа большего количества сортов пшеницы украинской селекции для скрининга более широкого круга генов устойчивости к вышеуказанным болезням.

С другой стороны, постоянно возникающие новые расы *P. graminis*, *P. triticina* и *P. striiformis*, против которых становятся неэффективными уже известные гены устойчивости, стимулирует поиск новых генов устойчивости и их вовлечение в процесс создания новых сортов, особенно с устойчивостью к новым высоковирулентным расам, в первую очередь, желтой и стеблевой ржавчины. Конечно же, и этот подход, кроме всего прочего, требующий большого количества средств, и является трудоемким, также полностью не решает проблему. Поэтому рассма-

тривается возможность использования гомологов уже известных генов устойчивости и их комбинаций (пирамидирования) для борьбы с различными видами ржавчинных грибов. С этой целью нами было проанализировано наличие высокоидентичных гомологов генов ячменя *Rpg5*, *Adf3* и *RGAI*, обеспечивающих устойчивость к Ug99, в геномах *Aegilops tauschii*, *Triticum urartu* и *Triticum aestivum*. Считается, что триада генов – *Rpg5*, *Adf3* и *RGAI* – вовлечена в универсальные для злаков механизмы противодействия заражению стеблевой ржавчиной, поскольку один из генов, а именно *Adf3*, кодирует фактор деполимеризации актина. Семейство генов *Adf*, как и гены актина, очень консервативно не только у близких, но и у эволюционно отдаленных организмов. Поэтому дальнейшие исследования механизмов устойчивости, связанных с экспрессией и функционированием белков, являющихся продуктами этих генов, могут стать ключевыми для понимания взаимодействия гриба-паразита и клеток растений-хозяев. Поскольку гомологи этих генов потенциально способны обеспечивать устойчивость к стеблевой ржавчине, они являются первоочередными кандидатами для проверки в полевых инфекционных питомниках. Хотя относительно небольшое количество фундаментальных исследований в этом направлении и тормозит разработку новых, эффективных способов борьбы с ржавчинными грибами, имея нужные сведения о ключевых клеточных механизмах реализации их инфекционного потенциала, и объединив их с такими современными методами изменения генома как CRISPR/Cas9, станет возможным более целенаправленно улучшать культурные злаки. В свою очередь, это может привести в перспективе к решению проблемы борьбы со стеблевой, листовой и желтой ржавчиной на новом уровне для эффективного сохранения урожая злаковых культур.

И.Н. Ильющёнок¹, Е.П. Гунько², М.Л. Антонович²,
Н.Н. Яцков², В.В. Скакун², В.В. Гринев¹

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОГО АНАЛИЗА ДАННЫХ И ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ В ИЗУЧЕНИИ СПЛАЙСИНГА РНК ГИБРИДНОГО ОНКОГЕНА *RUNX1-RUNX1T1*

¹Белорусский государственный университет, биологический
факультет, кафедра генетики
Республика Беларусь, 220030, г. Минск, пр. Независимости, 4
e-mail: nov.ilyushonok@gmail.com

²Белорусский государственный университет, факультет
радиофизики и компьютерных технологий, кафедра системного
анализа и компьютерного моделирования
Республика Беларусь, 220030, г. Минск, пр. Независимости, 4

Сбалансированная негомологичная транслокация t(8;21) (q22;q22) является одной из наиболее часто встречающихся генетических аномалий у больных острым миелоидным лейкозом. В результате транслокации образуется гибридный онкоген *RUNX1-RUNX1T1*, последовательность которого кодирует белок, состоящий из связывающего ДНК домена RHD транскрипционного регулятора *RUNX1* на N-конце и фактически полноразмерного репрессора транскрипции *RUNX1T1* на C-конце. Данный онкоген вовлечён в функционирование регуляторных сетей, обеспечивающих процессы малигнизации, однако детально его роль в лейкозогенезе не изучена.

Для онкогена *RUNX1-RUNX1T1* обнаружено большое количество альтернативных изоформ РНК, причём их потенциальное количество, судя по всему, ещё выше: полный обход ациклического ориентированного экзонного графа, реконструированного нами на основе 134 экспериментально обнаруженных альтернативных транскриптов *RUNX1-RUNX1T1*, предсказывает существование более 43 тыс. альтернативных изоформ РНК. Вполне закономерным является вопрос о причинах, приводящих к подобной избирательной реализации кодирующего потенциала изучаемого онкогена.

Чтобы ответить на этот вопрос, мы использовали комбинированный подход, основанный на методах интеллектуального анализа данных и компьютерного моделирования с последующей

экспериментальной верификацией полученных аналитических результатов. Результаты нашего теоретического исследования говорят о том, что между экспериментально обнаруженными и предсказанными путем полного обхода экзонного графа транскриптами нет четких различий на уровне признаков экзонов. При этом нами было установлено, что теоретически предсказанные транскрипты могут быть ранжированы по степени подобия экспериментальным транскриптам и отобраны для последующей экспериментальной верификации.

Экспериментальная верификация предсказанных альтернативных транскриптов и событий сплайсинга нами проводилась с помощью полнотранскриптомного и «прицельного» RNA-Seq, а также ОТ-ПЦР. Экспериментальная проверка подтвердила реальное существование в лейкозных клетках некоторых предсказанных, но ранее не обнаруженных изоформ РНК, что говорит о потенциальной эффективности совместного использования моделей на основе экзонных графов и технологий NGS в поиске неизвестных на данный момент альтернативных транскриптов. Одновременно с этим наши результаты говорят о том, что мы приблизились к пределу аналитических и экспериментальных возможностей по обнаружению новых изоформ РНК изучаемого онкогена *RUNX1-RUNX1T1*.

**В.Н. Кипень¹, Ж.Т. Исакова², С.Б. Мельнов³, Э.Т. Талайбекова²,
К.Б. Макиева⁴, Н.М. Алдашева⁵, А.А. Алдашев²**

ЭТНОГЕНЕТИКА В КОНТЕКСТЕ ОЦЕНКИ РИСКА РАЗВИТИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ДЛЯ СОЦИАЛЬНО КОНТРАСНЫХ РЕГИОНОВ

¹*ГУ «Научно-практический центр Государственного комитета
судебных экспертиз Республики Беларусь»*

*Республика Беларусь, 220073, г. Минск, ул. Кальварийская, 43
e-mail: slavakipen@rambler.ru*

²*Институт молекулярной биологии и медицины
Кыргызская Республика, Бишкек*

³*Республиканское научно-исследовательское унитарное
предприятие «Бел НИЦ “Экология”»*

Республика Беларусь, 220095, г. Минск, ул. Г. Якубова, 76

⁴*Национальный центр онкологии Министерства
здравоохранения Кыргызской Республики
Кыргызская Республика, Бишкек*

⁵*Кыргызско-Российский Славянский Университет
Кыргызская Республика, Бишкек*

На сегодняшний день принята теория, согласно которой рак молочной железы (РМЖ) рассматривается как сложное полигенное заболевание, в его основе лежит комбинированный эффект многих генетических вариантов с разной частотой встречаемости и пенетрантностью. Предрасположенность реализуется в результате взаимодействия генетических факторов и факторов окружающей среды, что является сегодня предметом активного изучения учёных всего мира.

Цель данного исследования – с использованием метода Multifactor Dimensionality Reduction выявить особенности взаимодействия полиморфных вариантов р.Q399R (rs25487) гена *XRCC1* и р.P72R (rs1042522) гена *TP53*, отвечающих за высокий риск развития РМЖ, а также провести сравнительную оценку данного эффекта для двух национальных групп – из Центрально-Азиатского (Кыргызская Республика) и Восточно-Европейского (Республика Беларусь) регионов.

Результаты молекулярно-генетического анализа для полиморфных вариантов р.Q399R (ген *XRCC1*) и р.P72R (ген *TP53*) для пациентов из Кыргызской Республики представлены в [Иса-

кова Ж.Т. и др., Молекулярная медицина, 2016, № 2, С.40-44], аналогичные данные для пациентов из Республики Беларусь дискутировались в [Кипень В.Н. и др., Проблемы здоровья и экологии, 2015, № 4 (46), С.40-46; Кипень В.Н. и др., Экологическая генетика, 2015, Т. 13, № 4, С.91-98].

С использованием алгоритма Multifactor Dimensionality Reduction (MDR) определены сочетания генотипов (генетический профиль), значительно модифицирующие риск развития РМЖ. Было выявлено, что генетическим профилем (сочетанием генотипов/аллелей), приводящим к значительному возрастанию риска развития спорадических форм РМЖ является наличие аллели Gln по ОНП р.Q399R (ген *XRCC1*) и аллели Pro по ОНП р.P72R (ген *TP53*). Данная зависимость показана на обеих исследованных выборках, что может служить бесспорным доказательством идентичности (или, по крайней мере, схожести) механизмов злокачественной трансформации при РМЖ при межгенных взаимодействиях и участии в сигнальных путях генов *XRCC1* и *TP53*.

Однако результаты молекулярно-генетических исследований, касающихся ассоциации вариантов полиморфных локусов с многофакторными заболеваниями, полученные на одной популяции, далеко не всегда совпадают с данными, полученными на других этнических группах. В связи с этим для выявления генетических факторов повышенного риска развития РМЖ целесообразно исследовать каждую популяцию в отдельности.

В.Н. Кипень¹, С.Б. Мельнов², С.Ю. Смирнов³, А.Е. Океанов³

**ВЫЖИВАЕМОСТЬ ПАЦИЕНТОВ
СО СПОРАДИЧЕСКИМ РАКОМ
МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ЗАВИСИМОСТИ
ОТ ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ ПО ГЕНАМ
*XRCC3, GSTP1 И MTHFR***

¹ГУ «Научно-практический центр Государственного комитета
судебных экспертиз Республики Беларусь»

Республика Беларусь, 220114, г. Минск, ул. Филимонова, 25
e-mail: slavakipen@rambler.ru

²РУП «Белорусский научно-исследовательский центр
“Экология”»

Республика Беларусь, 220095, г. Минск, ул. Г. Якубова, 76

³ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и
медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»

Республика Беларусь, 223040, Минский р-н, аг. Лесной

В структуре всех злокачественных новообразований женского населения Республики Беларусь (включая гемобластозы) частота злокачественных новообразований молочной железы в 2014 году составила 17,6%. Анализ грубых интенсивных показателей (на 100 тыс. женского населения) продемонстрировал двукратное увеличение частоты выявления новых случаев заболевания с 39,2 до 80,1 за 1990-2014 годы [Статистика онкологических заболеваний в Республике Беларусь (2005-2014), под ред. О. Г. Суконко, 2015].

Увеличение риска развития спорадического РМЖ зависит от наличия у пациента совокупности патогенетически значимых генотипов по ключевым генам систем, ответственных за поддержание стабильности генома: репарация, биотрансформация ксенобиотиков, фолатный цикл и др. Патологический генотип (повышающий риск формирования злокачественного новообразования) оказывает влияние и на агрессивность роста опухоли и, как следствие – снижает выживаемость носителей. Нами был проведен анализ, направленный на оценку связи между носительством патологического генотипа (Кипень В.Н., Генетика, 2017, Т.53, №7. С.838-844) и снижением выживаемости пациентов со спорадическим раком молочной железы (РМЖ).

Ретроспективный анализ амбулаторных карт позволил выяснить исход заболевания для 85,8% пациентов (145/169) из основной группы исследования (Белорусский канцер-регистр ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Алек-сандрова») по состоянию на 19.06.2017 г.: 31,0% (45/145) пациентов умерли от основного заболевания (МКБ10, C50 – Злокачественное новообразование молочной железы), 69,0% (100/145) – живы. Проведенный анализ (χ -квадрат, точный двухсторонний критерий Фишера) показал, что 45,3% (24/53) пациентов со спорадическим РМЖ, имеющих патогенетический профиль по однонуклеотидному полиморфизму (ОНП) p.T241M (ген *XRCC3*), p.I105V (ген *GSTP1*) и p.E429A (ген *MTHFR*) умерли от основного заболевания. Для пациентов без данных сочетаний (патогенетический эффект отсутствует или имеет место протективный эффект) летальный исход от основного заболевания был отмечен лишь для 23,4% (15/64) и 21,4% (6/28) пациентов соответственно. Выявленные различия статистически значимы – $p=0,019$.

Анализ 5-летней выживаемости с использованием кривых Каплан-Мейера (Kaplan-Meier estimator) также подтвердил сделанные ранее заключения, Log Rank (Mantel Cox) $p=0,026$. В то же время, статистически значимых различий для абсолютных значений времени (в месяцах) с момента постановки диагноза до летального исхода в зависимости от генетического профиля не выявлено.

Таким образом, при наличии патогенетически значимой совокупности генотипов по ОНП p.T241M (ген *XRCC3*), p.I105V (ген *GSTP1*), p.E429A (ген *MTHFR*) существенно уменьшаются показатели 5-летней выживаемости среди пациентов со спорадическим РМЖ.

Учитывая повсеместность явления взаимодействия неаллельных генов в определении восприимчивости к различным заболеваниям человека, изучение взаимодействия множества генов в контексте общих патологических путей при РМЖ представляется наиболее актуальной и приоритетной задачей современной клинической онкологии и медицинской генетики. Генотипирование по ОНП p.T241M (ген *XRCC3*), p.I105V (ген *GSTP1*) и p.E429A (ген *MTHFR*) может лечь в основу оценки эффективности таргетного персонализированного лечения пациентов с РМЖ.

А.И. Киреева, М.Е. Михайлова, Е.Л. Романишко,
Н.И. Тиханович, Н.А. Камыш

**ИССЛЕДОВАНИЯ БЕЛОРУССКИХ
ПОПУЛЯЦИЙ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА
НА НОСИТЕЛЬСТВО ГЕНЕТИЧЕСКОГО ДЕФЕКТА,
ПРИВОДЯЩЕГО К НАРУШЕНИЮ СИНТЕЗА
БЕЛКА ФАКТОРА СВЕРТЫВАЕМОСТИ КРОВИ XI,
ГЕН *FXI***

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: M.Mikhailova@igc.by*

В базе данных о наследственных дефектах животных – OMA (Online Mendelian Inheritance In Animals) Университета Сиднея содержится фенотипическое описание около 400 наследственных аномалий крупного рогатого скота (*Bos Taurus* L.) и свыше 200 генетических дефектов свиньи домашней (*Sus scrofa* L.). Практикуемая в течение последних десятилетий стратегия селекции на быков-лидеров привела к существенному росту уровня гомозиготности в большинстве культурных пород КРС. Моногенные наследственные заболевания идентифицированы практически во всех породах молочного крупного рогатого скота и постоянно регистрируются случаи появления новых. Следует отметить, что селекционное значение имеют те мутации, носителями которых являются интенсивно используемые быки-производители. Генетическое совершенствование пород сельскохозяйственных животных предусматривает международный обмен генофондом с целью использования лучших мировых селекционных достижений. Однако завоз племенного материала из-за рубежа сопряжен с неконтролируемым появлением и распространением наследственных аномалий, способных нанести существенный вред развитию животноводства и поставить под угрозу биологическую безопасность страны. В частности, у КРС выявляют носителей генетической аномалии – дефицит XI фактора (*FXID*).

Аутосомная рецессивная мутация *FXID* (factor XI deficiency), выявленная у человека, собак и млекопитающих вида *Bos taurus* L., детерминирует наследственное генетическое заболевание. Фактор XI, плазменный предшественник тромбопласти-

на – это гликопротеин, участвующий в ранней фазе свертывания крови. Впервые данная патология была описана в 1969 году у американского КРС, позже у некоторых пород скота в Европе. Генетический дефект, дефицит XI фактора свертывания крови у КРС (OMIA F11 000363) является последствием вставки нуклеотидной последовательности длиной 76 пар оснований в составе экзона 12 гена *FXI*. В результате инсерции появляется STOP codon (TAA), нарушающий синтез белка (Maggon, В.М., 2004). У животных с дефицитом фактора XI могут быть продолжительные кровотечения, анемии, нарушения воспроизводительной функции. У гомозиготных особей наблюдается состояние, подобное мягкой форме гемофилии.

Для выявления носителей мутантного аллеля исследуемого локуса гена *FXI* протестирован 251 образец. Были исследованы животные (случайная выборка) из хозяйств: Гомельская область – 26 образцов, Брестская область – 68 образцов, Витебская область – 23 образца, Минская область – 100 образцов, Гродненская область – 29 образцов. Животные-носители мутантного аллеля в исследуемом локусе гена *FXI* КРС не выявлены. Частота встречаемости наследственного генетического дефекта *FXID* в исследованной выборке КРС – 0,0%.

Так как в протестированной выборке КРС носителей мутантной аллели выявлено не было, поэтому для подтверждения специфичности ПЦР-продукта 244 п.н., соответствующего нормальному аллелю локуса гена *FXI*, нуклеотидная последовательность была проверена методом секвенирования по Сэнгеру.

А.В. Колубако, Е.А. Николайчик

***NDR1* УЧАСТВУЕТ В ДЕТЕКЦИИ
PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM РАСТЕНИЯМИ
*NICOTIANA BENTHAMIANA***

*Белорусский государственный университет, биологический
факультет, кафедра молекулярной биологии
Республика Беларусь, 220030, г. Минск, пр. Независимости, 4
e-mail: kolubakoav@yandex.ru*

Несмотря на доступность геномных последовательностей многих растений и их патогенов, компоненты сигнальных цепей, определяющих исход взаимодействия растений с патогеном, в большинстве случаев изучены недостаточно. На данный момент наиболее полная информация доступна для *Arabidopsis thaliana* и его патогенов. В частности, много работ посвящено взаимодействию этого растения с *Pseudomonas syringae*. Для доставки эффекторных молекул во время заражения растения-хозяина данный патоген активно использует систему секреции третьего типа (ССТТ). Известно более 30 эффекторов *P. syringae*, доставляемых таким образом, многие белки растения, являющиеся их мишенями, и сигнальные белки. В геноме *A. thaliana* обнаружены гены двух типов R-белков, TIR-NB-LRR и CC-NB-LRR, которые распознают эффекторы ССТТ *P. syringae*, доставляемые в растительную клетку. Данные R-белки вызывают запуск двух путей активации иммунного ответа: TIR-NB-LRR действуют через белок-посредник EDS1 (enhanced disease susceptibility), а CC-NB-LRR – через NDR1 (non race-specific disease resistance 1). Оба пути конвергируют на уровне RAR1 и SGT1, после чего происходит генерация активных форм кислорода, запуск реакции гиперчувствительности, активация MAP-киназного сигнального каскада, и, как следствие, индукция экспрессии защитных генов.

Механизмы детекции патогенов хозяйственно ценными растениями семейства Пасленовые изучены значительно хуже. Одним из основных патогенов растений этого семейства является *Pectobacterium carotovorum*. На данный момент известны лишь некоторые компоненты иммунных сигнальных цепей Пасленовых и лишь один эффектор ССТТ *P. carotovorum*. В наших экспериментах по изучению сигнальной сети, ответственной за детекцию пектобактерий, опыты проводились на растении

Nicotiana benthamiana, а результаты регистрировались визуально по индукции реакции гиперчувствительности. Эксперименты по сайленсингу гена *EDSI* в растениях с последующим заражением их суспензиями клеток штаммов *P. carotovorum*, дефектных по различным компонентам ССТТ, не дали отличных от контролей результатов. Это свидетельствует о том, что R-белки типа TIR-NB-LRR не участвуют в активации защитного ответа. Инактивация гена *NDR1* в растениях *N. benthamiana* приводит к повышению чувствительности последних к заражению патогеном *P. carotovorum* и может свидетельствовать в пользу участия R-белка типа CC-NB-LRR в детекции этого патогена. Отсутствие отличий в реакции растений с сайленсингом от контрольных в ответ на внедрение клеток штамма, дефектного по эффектору DspE, предполагает, что гипотетический R-белок не участвует в детекции DspE. В то же время индукция гиперчувствительности у растений с сайленсингом *NDR1* при отсутствии таковой у интактных растений в ответ на инфильтрацию клетками штамма с полной инактивацией всей ССТТ говорит о существовании другого(-их) эффектора(-ов) у *P. carotovorum* и их участии в развитии заболевания.

А.В. Константинов, О.Ю. Баранов

ДИАГНОСТИКА ЛОКУСОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ФАКТОРАМ СРЕДЫ, У БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ФОРМ БЕРЕЗЫ

Институт леса НАН Беларуси

Республика Беларусь, 246001, г. Гомель, ул. Пролетарская, 71

e-mail: avkonstantinof@mail.ru

В настоящее время клеточным культурам отводится ведущая роль в фундаментальных исследованиях по молекулярной биологии и физиологии растений. Для популяций растительных клеток характерен ряд специфических особенностей детерминированных генетически или проявляющихся в зависимости от дифференцированной активности генов, что определяет высокую вероятность образования регенерантов, имеющих существенные отклонения от исходного материала по фенотипическим и генотипическим признакам в результате соматклональной вариабельности. Дополнительным инструментом клеточной биотехнологии является внедрение молекулярных маркеров для определения ассоциаций маркер-признак, получению новых форм и линий растений и их дальнейшему отбору на продуктивность, устойчивость и качество. Особенно эффективна маркер-сопутствующая селекция в отношении признаков с мультигенным контролем, трудно фенотипируемых или существенно зависящих от окружающей среды признаков.

Экспериментальным материалом служила береза повислая (*Betula pendula* Roth.) клона 6-161/3, и триплоидная береза гибридного (*Betula pubescens* Ehrh. × *pendula* Roth.) клона № 52-84/8, полученные способом непрямого морфогенеза из соматических тканей листьев на среде MS (Murashige & Skoog 1962), дополненной 6-BAР 5 мг·л⁻¹, NAA 1 мг·л⁻¹, TDZ 0,1 мг·л⁻¹. Проводили тотальную селекцию регенерантов *de novo* на наличие/отсутствие морфологических изменений и культивировали отдельные линии на безгормональной модифицированной среде WPM (G. Lloyd & В. McCown, 1980). Для имитации стрессового эффекта *in vitro* применяли питательные среды, дополненные селективными: маннитом (концентрация 1,5%, 3,0%, 6,0%) – для понижения внешнего водного потенциала и хлоридом натрия (концентрация 0,25%, 0,50% и 0,75%) – для моделирования условий засоления. Продолжительность пассажа составляла 28 суток.

Показано, что линии гибридной березы SCh1, SCh2 и SCh9, отличающиеся морфологическими отклонениями, оказались крайне чувствительными к токсическому действию NaCl, развитие растений останавливалось на 11-17 день культивирования. Относительно линий березы повислой было установлено, что уже при наличии в среде 0,25% NaCl происходило снижение интенсивности развития, как побегов (в 1,1 – 1,7 раза), так и корней (в 2,0 – 2,7 раза) по сравнению с контрольной группой, при этом линии SCp3 и SCp8 по показателям «средняя высота стволика» ($47,2 \pm 17,6$ мм и $44,3 \pm 21,8$ мм) от контроля ($51,8 \pm 22,4$ мм) достоверно не отличались.

Культивирование в присутствии селективного агента маннита, вызывающего обезвоживание тканей, и последующий анализ морфологических показателей и жизнеспособности микроклонов соматоклональных генотипов повислой и гибридной березы позволил выявить линии, характеризующиеся различной степенью чувствительности к осмотическому стрессу и, вероятно, сопряженными с ним условиям засухи и понижения температуры.

Для использования в дальнейшей работе по созданию новых форм березы методами культуры тканей было выявлено 6 локусов-кандидатов (Bet29611, Bet32443, Bet25690, Bet10990, Bet56998, Bet78392), детерминирующие рибосомные, РНК-связывающие белки и деформилазу, ассоциированных с устойчивостью растений к действию средовых факторов.

А.В. Константинов, С.В. Пантелеев

**ПРЯМАЯ РЕГЕНЕРАЦИЯ И МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ
ЯСЕНЯ ОБЫКНОВЕННОГО (*FRAXINUS
EXCELSIOR* L.) В СТЕРИЛЬНОЙ КУЛЬТУРЕ**

*Институт леса НАН Беларуси
Республика Беларусь, 246001, г. Гомель, ул. Пролетарская, 71
e-mail: avkonstantinof@mail.ru*

Ясень обыкновенный является одной из наиболее ценных лиственных пород, его кольцепоровая твердая древесина находит широкое применение в мебельном и столярном производствах, химической промышленности. Декоративные формы ясеня используются при создании парковых массивов, групп и аллей. В Беларуси ясень занимает около 0,4% лесопокрытой площади, в последнее десятилетие отмечается существенная деградация его насаждений, обусловленная влиянием климатогенных факторов, главным образом, как гигромезофита, изменением гидрологического режима почв и повышением фитопатогенной нагрузки. Отсутствие эффективных методов вегетативного размножения определяет необходимость разработки биотехнологических подходов для массового размножения ясеня обыкновенного и внедрения ясеня в лесные культуры, лесозащитные полосы и закладки сырьевых плантаций. Цель работы состояла в инициации асептических культур и микроразмножении ясеня обыкновенного различных генотипов.

Материал получали выгонкой из зимующих почек в лабораторных условиях. Побеги ясеня промывали 15 минут в смеси растворов препаратов «Хлороцид» и «Доместос» (0,4% и 2%), ополаскивали проточной водой 20 минут. В условиях ламинарного потока проводили стерилизацию в 70% этаноле (30 секунд) и 0,1% HgCl_2 (3 минуты), трехкратно промывали стерильной дистиллированной водой и субкультивировали на питательные среды MS, WPM, DKW, QL (pH 5,6-5,8; сахароза 30 г·л⁻¹; агар 7 г·л⁻¹), дополненные 1,0; 2,0 мг·л⁻¹ 6-BAР по 30 шт. эксплантов на вариант опыта, отмечая тип побега (ауксисластный или брахисластный). Выращивание проводили при следующих условиях: $t = 23 \pm 1^\circ\text{C}$, круглосуточном освещении лампами «Osram» Daylight интенсивностью 2,0-3,0 тыс. люкс и влажности воздуха около 70%.

Эффективность стерилизации оценивали через 2 недели на среде MS без фитогормонов (выборка 50 эксплантов). Предложенная схема обработки обеспечила выход асептического материала до 74%. Основными контаминирующими агентами являлись бактерии. У 18% эксплантов отмечены признаки некроза тканей и следы выделения полифенолов в питательную среду.

После 1 месяца культивирования на нулевом пассаже наиболее интенсивную регенерацию (75,0%) отметили для эксплантов брахибластного происхождения на среде MS с $2 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ 6-ВАР. При этом в случае меньшего ($1,0 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ 6-ВАР) содержания цитокининов активнее пролиферировали фрагменты ауксибластов (77,4% и 53,8% соответственно для сред MS и DKW). Полученные микропобеги с 2-3 междоузлиями отсекали и переносили на среды аналогичного минерального состава, дополненные $2,0 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ 6-ВАР и $0,1 \text{ мг}\cdot\text{л}^{-1}$ NAA. Отмечали такие процессы тканевого морфогенеза как образование базального каллуса, развитие адвентивных и пазушных побегов и спонтанное укоренение. При культивировании на средах MS и QL происходило более интенсивное развитие побегов, их длина составляла $32,4 \pm 6,7$ мм и $40,5 \pm 9,2$ мм, а коэффициент размножения 3,8 и 4,2 соответственно.

Таким образом, в ходе работы подобрана система стерилизации растительного материала. Для культивирования ясеня *in vitro* следует проводить смену минерального состава питательной среды, а на эффективность пролиферации влияние оказывает тип побега, использованного для эксплантации.

П.Ю. Крупин, А.В. Полховский, А.А. Кочешкова,
Г.И. Карлов, М.Г. Дивашук

ИЗУЧЕНИЕ КОПИЙНОСТИ МОБИЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ В ГЕНОМАХ J, V И St У ВИДОВ ТРИБЫ TRITICEAE

ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева
Россия, 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49
e-mail: divashuk@gmail.com

Мобильные элементы (МЭ) – фрагменты ДНК, которые способны перемещаться по геному. Различают два класса мобильных элементов: I класса – ретротранспозоны и II класса – ДНК-транспозоны. МЭ составляют значительную часть геномов растений: 40% генома риса, 80% генома кукурузы, 90% генома пшеницы. Цветковые растения, в том числе злаки, несут в своём геноме большое разнообразие МЭ, среди которых преобладают LTR ретротранспозоны I класса. С одной стороны, активность МЭ в геноме растений подавляется с помощью метилирования ДНК, модификаций хроматина и малых РНК. С другой стороны, МЭ играют большую роль в эволюции растений: они приводят к образованию мутаций, способны регулировать экспрессию генов (в том числе посредством микроРНК), образовывать новые аллели и даже гены. Активность МЭ значительно возрастает в условиях стресса и полиплоидизации, обеспечивая адаптацию и увеличение разнообразия. Изучение копийности МЭ позволяет реконструировать эволюцию злаков и лучше понять их роль в видообразовании.

Целью нашего исследования было изучение копийности МЭ двух классов у трех диплоидных видов, несущих различные геномы – *Thinopyrum bessarabicum* (2n=14, JJ), *Dasyphyrum villosum* (2n=14, VV), *Pseudoroegneria spicata* (2n=14, StSt). Изучали МЭ I класса: LTR-ретротранспозоны суперсемейства *Gypsy* (*Fatima*, *Latidu*, *Sabrina*, *Erika*, *BAGY2*, *Geneva*), *Copia* (*Angela-A*, *Barbara*, *WIS-A*, *BARE1C*, *Veju*), неLTR-ретротранспозоны (*Ramona*, *Paula*); МЭ II класса: ДНК-транспозоны *Balduin*, *Rong*, *Charon*.

В результате анализа с помощью ПЦР в реальном времени с использованием двух однокопийных референсных генов была показана следующая копийность по МЭ.

Суперсемейство Gypsy. *Sabrina* и *BAGY2* показали сходную высокую копийность в геномах трех видов. *Latidu* и *Geneva* показали среднюю копийность у *P. spicata* (St) и *Th. bessarabicum* (J). А у *D. villosum* (V) отсутствовали.

Суперсемейство Copia. *Angela-A* и *WIS-A* имеют высокую копийность у всех видов. *BAREIC* показал среднюю копийность так же у трех видов. *Barbara* показал среднюю копийность у *P. spicata* (St), *Th. bessarabicum* (J) и отсутствие у *D. villosum* (V). *Veju* показал среднюю копийность у *Th. bessarabicum* (J) и *D. villosum* (V) и отсутствие у *P. spicata* (St).

ДНК-транспозоны. *Balduin* имеет среднюю копийность у трех видов. *Rong* показал среднюю копийность у *Th. bessarabicum* (J) и отсутствие у *P. spicata* (St) и *D. villosum* (V).

Fatima, *Erika*, *Ramona*, *Paula*, *Charon* показали отсутствие копийности (относительно референсных генов) в геномах *Th. bessarabicum* (J), *D. villosum* (V), *P. spicata* (St).

Таким образом, *Latidu*, *Geneva*, *Barbara*, *Veju* и *Rong* существенно отличались по своей копийности у изучаемых видов. Это позволяет предположить, что их распространение в соответствующих геномах произошло после дивергенции видов от общего предка.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ № 17-04-01871а.

П.В. Кузмицкая, О.Ю. Урбанович

**ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ НУКЛЕОТИДНОЙ
СТРУКТУРЫ ОДНОГО ИЗ ТРАНСКРИПЦИОННЫХ
ФАКТОРОВ СЕМЕЙСТВА DREB, ВЫДЕЛЕННОГО
ИЗ ЯБЛОНИ**

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: P.Kuzmitskaya@igc.by*

При выращивании плодовых культур в холодных климатических зонах одним из важнейших качеств является способность растений переносить низкие температуры. Яблоня, широко возделываемая на территории Беларуси, представлена множеством сортов, среди которых встречаются как устойчивые, так и неустойчивые к холоду. Изучение генов, влияющих на этот признак, имеет как фундаментальное, так и прикладное значение.

В ответе растения на различные виды абиотического стресса, в том числе и на холод, играет важную роль семейство транскрипционных факторов DREB (dehydration responsive element binding). Одним из генов, кодирующих DREB-белки, является ген MDP0000151428. Изучение уровня экспрессии этого гена показало ее повышение после воздействия низких температур на яблоню (Zhao et al., 2012). Целью данной работы было изучение вариабельности нуклеотидной структуры данного гена среди сортов различного генетического происхождения, обладающих разной устойчивостью к холоду.

Анализ вариабельности длины гена MDP0000151428 среди сортов различного генетического происхождения с помощью ПЦР показал, что сорт Freedom, обладающий низкой устойчивостью к холоду, и зимостойкие сорта (Антоновка, Имант, McIntosh и Юбиляр) не имели различий в длине нуклеотидных последовательностей. Для изучения вариабельности первичной структуры нуклеотидных последовательностей был клонирован и секвенирован фрагмент, выделенный из яблони сорта Антоновка обыкновенная, характеризующегося высокой устойчивостью к холоду. Его длина составила 606 п.н. В нем была обнаружена открытая рамка считывания, кодирующая гипотетический белок длиной 201 а.к., в составе которой был выявлен AP2-домен, характерный для членов семейства транскрипционных факторов DREB.

Сравнение гена, выделенного из генома яблоки сорта Антоновка обыкновенная, с MDP0000151428 показало присутствие отдельных замен нуклеотидов. Степень идентичности последовательностей составила 99,67%. Гомологичная последовательность из генома сорта Golden Delicious, обладающего низкой устойчивостью к холоду, была идентична клонированной нами на 99,17%, а выделенная из груши Бретшнейдера – на 97,52%, т.е. у представителей разных родов эти последовательности имеют больше различий.

При сравнении гипотетических аминокислотных последовательностей, кодируемых генами MDP0000151428, выделенными из разных сортов яблоки, между ними были обнаружены отличия. Третий аминокислотный остаток в гипотетическом белке Антоновки обыкновенной представлен полярным серином, а в случае Golden Delicious – неполярным пролином. В позиции 158 гипотетического белка Антоновки обыкновенной находится полярный цистеин, а у Golden Delicious – неполярный глицин. Примечательно, что гипотетический белок, транслированный *in silico* с последовательности, выделенной из генома груши Бретшнейдера, отличающейся высокой морозоустойчивостью, в рассматриваемых позициях имеет те же аминокислоты, что и гипотетический белок Антоновки обыкновенной. Поиск связи между обнаруженными заменами и устойчивостью растений к холоду будет являться темой дальнейшего исследования.

О.Д. Левданский, О.А. Барбук, О.Г. Давыденко,
М.И. Бельская

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА *APOA1* И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА ВЕРОЯТНОСТЬ РАЗВИТИЯ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ СЕРДЦА И СУБКЛИНИЧЕСКОГО АТЕРОСКЛЕРОЗА

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: cytoplasmic@mail.ru*

Аполипопротеин А1 (ApoA1) является одним из основных белков, входящих в состав липопротеинов высокой плотности (ЛПВП), концентрация которых в крови является одним из маркеров предрасположенности к ряду сердечно-сосудистых заболеваний. Ген *APOA1*, кодирующий данный белок, локализован на длинном плече 11 хромосомы. Одним из наиболее часто исследуемых полиморфных локусов в данном гене, ассоциированным с содержанием ЛПВП в крови, является однонуклеотидная замена в промоторной области (G-76A, rs670). В ряде исследований было показано снижение уровня ЛПВП у носителей данной замены, однако в некоторых случаях описано и противоположное ее влияние. Таким образом, несмотря на очевидные признаки связи данного полиморфного локуса с содержанием ЛПВП в плазме крови, его точное воздействие на данный показатель остается неопределенным.

В рамках данного исследования методом ПЦР в реальном времени с использованием Taq-Man зондов было изучено аллельное состояние локуса G-75A у 22 пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС), 44 – с диагностированным субклиническим атеросклерозом (СА) и 39 индивидов без выявленных сердечно-сосудистых заболеваний.

Частоты генотипов в группе с СА не значительно отличались от таковых у здоровых индивидов. Пациенты с ИБС характеризовались более высокими долями носителей гомозиготных генотипов по сравнению с контрольной выборкой (59,1% против 48,7% для генотипа GG и 13,6% против 2,6% для генотипа AA соответственно), однако данные различия не достигли уровня достоверных ($p=0,097$). Сходное распределение частот обнаружилось и при сравнении групп с ИБС и СА между собой, однако

разница в этом случае была значительно выше (среди пациентов с СА генотип GG был выявлен у 40,9%, AA – у 3,5%) и оказалась достоверной ($p=0,029$). Носители гетерозиготного генотипа оказались более чем в два раза более распространенными у пациентов с СА (56,8% против 27,3% в группе с ИБС).

Дальнейшее увеличение выборок (в первую очередь группы пациентов с ИБС) позволит уточнить влияние полиморфизма гена *APOA1* на вероятность развития ишемической болезни сердца и субклинического атеросклероза.

А.В. Левый, А.П. Ермишин, Е.В. Воронкова,
Ю.В. Полюхович, В.И. Лукша, А.С. Агеева

**ПУТИ ИНТРОГРЕССИИ В *SOLANUM TUBEROSUM*
ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К PVY И ФИТОФТОРОЗУ
ДИКОГО АЛЛОТЕТРАПЛОИДНОГО ВИДА
КАРТОФЕЛЯ *S. STOLONIFERUM***

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: a30413@mail.ru

Целью настоящей работы являлась оценка возможности интрогрессии к *Solanum tuberosum* генов устойчивости к фитофторозу (*Rpi-sto1*) и PVY (Ry_{sto} и $Ry_{-f_{sto}}$) от дикого аллотетраплоидного вида картофеля *S. stoloniferum*. На основе анализа ДНК на наличие ПЦР-маркеров генов устойчивости были отобраны генотипы-носители данных генов и включены в скрещивания с высоко мужски фертильным дигаплоидом *S. tuberosum* (дикий вид использовался в качестве материнской формы) и диплоидными и митотически удвоенными тетраплоидными S_vS_v -линиями *S. tuberosum* (дикий вид использовался в качестве опылителя).

Показана возможность эффективного использования генотипов *S. stoloniferum*, отобранных по наличию молекулярных маркеров генов устойчивости к фитофторозу (*Rpi-sto1*) и PVY (Ry_{sto} и $Ry_{-f_{sto}}$) при гибридизации с *S. tuberosum*, как в качестве опылителей, так и в качестве материнских растений. Установлено, что при опылении *S. stoloniferum* пыльцой дигаплоида *S. tuberosum* наряду с триплоидными образуются также и диплоидные гибриды, несущие ПЦР-маркеры, характерные для генома В дикого вида (включая В-геном специфический). В подобной комбинации скрещиваний получен также один пентаплоидный гибрид.

Определено, что использование тетраплоидных S_vS_v -линий в качестве материнских растений при скрещивании с *S. stoloniferum* проблематично, так как в данной комбинации не удалось получить ни одного гибрида. Применение в качестве материнских растений диплоидных S_vS_v -линий позволило преодолеть одностороннюю несовместимость, характерную для скрещиваний между *S. stoloniferum* и *S. tuberosum*, и получить межвидовые гибриды. Последующая их оценка показала, что все они являются триплоидами, что затрудняет дальнейшее использование

в селекционном процессе из-за стерильности. Осуществлено митотическое удвоение хромосом одного из межвидовых гибридов, которое позволило получить фертильные гексаплоидные клоны, способные образовывать всхожие семена при опылении их пыльцой тетраплоидного сорта «Katahdin» (4x), а также диплоидного донора фертильности (2x) и гаплопродюсера *S. phureja* (2x). Гексаплоидные гибриды благодаря наличию цитоплазмы типа D/γ (S_vS_v-линии происходят от дигаплоида мексиканского сорта картофеля Nortena) обладали мужской фертильностью и завязывали семена при самоопылении. Это имеет большое практическое значение для получения мужски фертильных сортов картофеля, так как существующие сорта, происходящие от *S. stoloniferum* (тип цитоплазмы W/γ), мужски стерильны.

**А.Е. Макаревич, В.С. Панкратов, М.Г. Синявская,
А.М. Шимкевич, Н.В. Луханина, И.М. Голоенко,
Н.Г. Даниленко, О.Г. Давыденко**

РАЗРАБОТКА ПОДХОДА К АНАЛИЗУ РЕЗУЛЬТАТОВ NGS-СЕКВЕНИРОВАНИЯ СМЕСЕЙ ХЛОРОПЛАСТНОЙ И МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК ЯЧМЕНЯ

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: cytoplasmic@mail.ru*

Отличительной особенностью растительных клеток является наличие трех взаимодействующих геномов: ядерного, митохондриального и хлоропластного. Изменения в нуклеотидной последовательности ДНК митохондрий и хлоропластов могут влиять на фенотип растений, как на клеточном, так и на организменном уровне, в том числе отражаясь на хозяйственно-ценных признаках. В качестве моделей для изучения вклада органельных геномов в формирование фенотипа могут выступать коллекции аллоплазматических линий.

Объектом нашего исследования выступает коллекция аллоплазматических линий ячменя, созданная сотрудниками лаборатории нехромосомной наследственности Института генетики и цитологии НАН Беларуси. Целью исследования является получение информации о различиях в нуклеотидных последовательностях ДНК хлоропластов и митохондрий между аллоплазматическими линиями ячменя и их родительской формой.

Выделение ДНК проводилось из фракции хлоропластов, полученной путем дифференциального центрифугирования, методом лизиса с додецилсульфатом натрия и последующей депротеинизации смесью фенола и хлороформа. Для приготовления ДНК-библиотек был использован набор Nextera XT (Illumina Inc., USA). Парноконцевое секвенирование проводили на приборе Illumina MiSeq с использованием набора реагентов MiSeq Reagent Kit v3 на 600 циклов.

В получаемом таким образом препарате хлоропластной ДНК содержится примесь ДНК митохондрий, что позволяет анализировать геномы обоих органелл, однако эта задача осложняется наличием гомологичных участков между ними.

Таким образом, задачей нашего исследования является разработка оптимального подхода к анализу полученных результатов секвенирования, который позволил бы получить полные последовательности хлоропластного и митохондриального геномов. В частности, это подразумевает сравнение сборки геномов *de novo* с выравниванием прочтений на референсные последовательности, выбор программ и оптимизацию параметров фильтрации прочтений, их сборки и выравнивания. Разработанный подход может быть использован в различных исследованиях, требующих получения полных последовательностей геномов органелл.

А.А. Мельникова, С.И. Леонович, Е.А. Храмцова

**ПОЛУЧЕНИЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ
NICOTIANA TABACUM, НЕСУЩИХ *ACDS*-ГЕН
БАКТЕРИЙ *PSEUDOMONAS PUTIDA* В-37**

Белорусский государственный университет
Республика Беларусь, 220030, г. Минск, пр. Независимости, 4
e-mail: Elena_khramtsova@inbox.ru

Этилен является одним из основных фитогормонов, необходимых для нормального роста и развития растений. Однако под влиянием широкого спектра факторов биотического и абиотического происхождения его содержание в растительных тканях увеличивается, что приводит к ускорению процессов старения, пожелтению и опаданию листьев и плодов. В настоящее время одним из наиболее перспективных подходов к снижению концентрации стрессового этилена является создание трансгенных растений, экспрессирующих бактериальный *acdS*-ген, кодирующий фермент 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат дезаминазу (АЦК-дезаминазу), который разлагает предшественник этилена, АЦК, до аммиака и α -кетобутирата.

С помощью ПЦР была осуществлена амплификация *acdS*-гена бактерий *P. putida* В-37. Полученный фрагмент ДНК размером 1017 п.н. выделили из агарозного геля и лигировали с рTZ57R вектором. Полученной лигирующей смесью трансформировали клетки *E. coli* XL1-blue. В результате была получена плаزمида рTacdSB37. Отбор рекомбинантных клонов производился на селективной среде, содержащий антибиотик ампициллин в концентрации 40 мкг/мл.

Затем с помощью программы BLAST был проведен анализ первичной нуклеотидной последовательности амплифицированного фрагмента ДНК бактерий *P. putida* В-37, который показал на наличие гомологии (91%) с нуклеиновыми последовательностями *acdS*-генов других бактерий рода *Pseudomonas*. Далее было осуществлено переклонирование *acdS*-гена в вектор, поддерживаемый растительными клетками, – рВ1121. Для этого, *acdS*-ген был вырезан по сайтам рестрикции BamH1 из рTacdSB37 и лигирован с вектором рВ1121, линейаризованным по BamH1 сайту. Отбор трансформантов осуществлялся на селективной среде, содержащей антибиотик канамицин в концентрации 50 мкг/мл.

Перенос рекомбинантной плазмиды в клетки *A. tumefaciens* AGLO был осуществлён путём прямой трансформации. Отбор трансформантов проводили на селективной среде, содержащей антибиотики канамицин в концентрации 50 мкг/мл и рифампицин в концентрации 20 мкг/мл.

Агробактериальная трансформация растений *N. tabacum* 6-8 недельного возраста клетками *A. tumefaciens* AGLO, несущими рекомбинантную плазмиду pBI121acdSB37, была произведена методом листовых дисков.

Для проверки наличия вставки *acdS*-гена бактерий *P. putida* В-37 в геном растений проводили выделение тотальной ДНК с последующим проведением полимеразной цепной реакции со специфическими праймерами к данному гену. В результате ПЦР был получен фрагмент ДНК, соответствующий размеру *acdS*-гена бактерий *P. putida* В-37. Таким образом, были созданы трансгенные растения *N. tabacum*, несущие *acdS*-ген бактерий *P. putida* В-37.

Л.В. Митиогло¹, Н.Г. Лысенко², С.Ю. Рубан³,
А.М. Федота²

**ОЦЕНКА СВЯЗИ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ
CAPN316, CAST282, L127V, F279Y И A257G
С ПРОДУКТИВНЫМИ И РЕПРОДУКТИВНЫМИ
ХАРАКТЕРИСТИКАМИ ПОТОМСТВА БЫКОВ
ПОРОД МОЛОЧНОГО НАПРАВЛЕНИЯ**

¹ДП ДГ «Нива» Института разведения и генетики животных
имени М.В. Зубца НААН
Украина, 20009, Черкасская обл., Христиновский р-н,
с. Христиновка, ул. Садовая, 1
e-mail: niva.irgt@gmail.com

²Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина
Украина, 61022, г. Харьков, пл. Свободы, 4
e-mail: n.g.lysenko@gmail.com, amsfedota@gmail.com

³ООО «МПК Екатеринославский»
Украина, 49082, г. Днепр, ул. Передовая, 545
e-mail: rubansy@gmail.com

При репродукции КРС используется значительно меньшее количество быков, чем коров, поэтому целесообразно проведение исследований эффектов используемых в селекции полиморфных вариантов (SNPs) на характеристики потомства. В связи с этим, цель данного исследования заключалась в анализе связи отдельных генотипов и аллельных вариантов SNPs *CAPN316* (ген кальпаина), *CAST282* (ген кальпаистатина), *L127V* (ген гормона роста), *F279Y* и *A257G* (ген рецептора гормона роста) с продуктивными и репродуктивными характеристиками дочерей быков пород молочного направления.

Исследование проведено у 24 быков пород молочного направления. Оценка средней продуктивности их дочерей (n = 19714) проведена на основании Каталогов быков молочных и молочно-мясных пород для воспроизводства маточного поголовья за 2014–2015 гг. Молекулярно-генетический анализ включал выделение ДНК из образцов венозной крови животных, генотипирование методом ПЦР-ПДРФ и электрофоретический анализ в 2% агарозном геле. Для проверки статистических гипотез использовались критерии t и χ^2 , а также метод корреляционного анализа по Пирсону.

Нами установлено, что у дочерей быков молочных пород аллели *C* SNPs *CAPN316* и *CAST282* ассоциируются с большим содержанием белка, которое убывает в направлении $CC > CG > GG$ – для *CANP316* $4,39\% > 3,38 \pm 0,06\% > 3,16 \pm 0,04\%$ ($p = 0,001$; $p = 0,029$). В отношении удоя (*CAPN316* – $CC: 6067 \pm 580$ кг, $CG: 8823 \pm 505$ кг, $GG: 8067 \pm 1224$ кг; $p = 0,032$), содержания жира, жирномолочности и белковомолочности (*CAST282* – $CC: 216,0 \pm 13,2$ кг, $CG: 305,7 \pm 36,3$ кг; $p = 0,081$), наблюдается обратный эффект: $GG \geq CG \geq CC$. Согласно данным литературы, SNPs *L127V*, *F279Y* и *A257G* ассоциируются с количественными признаками, включая также характеристики молока. Согласно нашим результатам, у дочерей быков молочных пород с генотипом *VV* по SNP *L127V* содержание жира в молоке выше, чем у дочерей быков с генотипом *LV* ($p = 0,018$) – 4,1% и 3,8%. Преимущество дочерей быков с генотипом *VV* отмечено также для других характеристик молока. У дочерей быков с генотипом *FF* по SNP *F279Y* белковомолочность выше на 114 кг или на 40%, чем у дочерей быков с генотипом *FY* ($p = 0,038$). В целом по *F279Y* различия между группами дочерей следовали закономерности $YY > FF > FY$. Статистически значимые различия для SNP *A257G* не отмечены. Полученные результаты позволяют прогнозировать эффекты SNP отдельных генов на экономически важные характеристики потомства оцененных быков.

М.Е. Михайлова, А.И. Киреева, Е.Л. Романишко

НАСЛЕДСТВЕННЫЕ АНОМАЛИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, АССОЦИИРОВАННЫЕ С ГАПЛОТИПАМИ ФЕРТИЛЬНОСТИ

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: M.Mikhailova@igc.by*

Число LoF-мутаций, обуславливающих наследственные аномалии и вызывающих эмбриональную и раннюю постэмбриональную смертность, в молочных породах крупного рогатого скота до недавнего времени ограничивалось единицами. В голштинской породе в настоящее время регистрируется 10 гаплотипов фертильности (HCD, HH0, HH1, HH2, HH3, HH4, HH5, HHB, HHC, HHD), оказывающих влияние на процент успешных осеменений (с наступлением стельности) и (или) ассоциированных с эмбриональной и ранней постэмбриональной смертностью на различных стадиях и встречающихся с частотой от 0,01 до 2,95 % (Cole J.B., 2016). Негативное влияние этих гаплотипов, оцененное в популяции североамериканских голштинов, проявляется в снижении частоты осеменений, завершившихся стельностью (при спаривании коров, отцы которых были скрытыми носителями гаплотипа, с быками, содержащими в геноме аналогичный гаплотип), на 1,0-9,9 %. Распространению гаплотипов фертильности способствует то, что их носители – выдающиеся быки-производители, которых предпочитают использовать в системе искусственного осеменения.

Гаплотип HH3 локализован на 2 хромосоме в области 94-96 Mb. Установлено, что причиной эмбриональной смертности телят до 60 дня является мутация T→C в позиции 95410507 (UMD_3.1) в экзоне 24 гена *SMC2* (белок структурной поддержки хромосом 2), (rs456206907). Данный полиморфизм служит причиной аминокислотной замены Phe1135Ser, локализованной внутри домена НТФазы кодируемого белка. Белок *SMC2* играет важную роль в процессах репарации ДНК, конденсации хромосом и их сегрегации в процессе клеточного деления.

Гаплотип HH1 картирован на 5-й хромосоме в области 58-66 Mb. Установлено, что причиной снижения фертильности, ассоциированной с гаплотипом фертильности HH1, служит

нонсенс-мутация С→Т в позиции 63150400 (UMD_3.1) в гене *APAF1* (апоптотический протеаза-активирующий фактор 1) (rs448942533), приводящая к аминокислотной замене Gln579Stop. Эта мутация приводит к укорочению белка APAF1, который инициирует апоптоз. Гомозиготность у животных по мутантному аллелю приводит к спонтанной эмбриональной смертности на разных сроках стельности.

Проведен скрининг животных на выявление мутаций в генах *FANCI*, *SLC35A3*, *ITGB2*, *UMPS* (гаплотипы фертильности НН0, ННС, ННВ, ННД), а также для выявления животных-носителей LoF-мутаций в генах *APAF1*, *SMC2*, *GART*, *TFB1M*, *APOB* (гаплотипы фертильности НН1, НН3, НН4, НН5, НСД). Начато создание коллекции референтных образцов *FANCI* (n=5), *APAF1* (n=2), *SMC2* (n=1), *TFB1M* (n=1), *APOB* (n=1). Выявленные LoF-мутации (SNP) в генах *APAF1*, *SMC2* (гаплотипы фертильности НН1, НН3) подтверждены секвенированием по Сэнгеру. Образцы ДНК животных-носителей гаплотипов фертильности были использованы в качестве контрольных образцов для отработки и проведения молекулярно-генетических методов диагностики. Системное использование разработанных и апробированных методических подходов для детекции мутантных аллелей, ассоциированных с гаплотипами фертильности, и выявление животных-носителей расширяют возможности проведения мониторинга племенных животных в Республике Беларусь.

**М.Е. Михайлова, А.И. Киреева, Е.Л. Романишко,
Н.И. Тиханович, Н.А. Камыш**

СКРИНИНГ ПОПУЛЯЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА НА НАЛИЧИЕ МУТАЦИИ В ГЕНЕ *FANCI*, ОБУСЛАВЛИВАЮЩЕЙ ВРОЖДЕННУЮ КОСТНУЮ ДЕФОРМАЦИЮ – БРАХИСПИНУ

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: M.Mikhailova@igc.by*

Синдром брахиспина (*BY*) (*Brachyspina* – «короткий позвоночник») – рецессивное наследственное заболевание (OMIA 000151-9913). Животные-носители мутантного аллеля синдрома брахиспина характеризуются выраженным снижением массы тела, задержкой роста, тяжелым пороком развития позвонков, приводящего к значительному укорачиванию позвоночника. Кроме того, выявляются пороки развития внутренних органов, в частности сердца, почек и яичек.

Также показано, что статус животного-носителя брахиспины коррелирует с фертильностью (гаплотип фертильности НН0), которая является одним из наиболее важных показателей плодовитости у крупного рогатого скота (КРС).

Нами проводился скрининг животных на выявление мутаций в генах *FANCI*, *SLC35A3*, *ITGB2*, *UMPS* (гаплотипы фертильности НН0, ННС, ННВ, ННД), а также для выявления животных-носителей LoF-мутаций в генах *APAF1*, *SMC2*, *GART*, *TFB1M*, *APOB* (гаплотипы фертильности НН1, НН3, НН4, НН5, НСД).

Мутация выявлена в гене *FANCI* (*Fanconi anemia complementation-group*). Мутантный аллель, обуславливающий данный генетический дефект, характеризуется наличием делеции 3.3 т.п.н. Большая часть гомозиготных эмбрионов гибнет на ранних стадиях стельности, но редко (менее чем 1 на 100 000 отелов) плод донашивается до конца срока. Телята рождаются мертвыми, у них укорочен позвоночник, трубчатые кости конечностей удлинены и истончены, имеются другие отклонения в развитии.

Используя данную технологию, можно проводить генотипирование ДНК полиморфизмов КРС, расположенных в гене *FANCI* (*Fanconi anemia complementation-group*) для идентифи-

кации животных-носителей мутантного аллеля, детерминирующего синдром брахиспины. Метод позволяет осуществлять анализ нуклеотидной последовательности ДНК животного с целью выявления делеции 3.3 т.п.н., обуславливающей генетический дефект, для предотвращения распространения данной мутации в поголовье скота. Возможность выявления животных-носителей ВУ может быть эффективно использована для проведения генетического контроля, а также для селекции КРС с целью увеличения воспроизводства стада.

Генетический дефект брахиспина обусловлен наличием мутации в гене *FANCI* КРС. Мутантный аллель характеризуется наличием делеции 3.3 т.п.н.

У здорового животного (ВУF) два нормальных аллеля гена (гомозигота). На электрофореграмме видна одна полоса размером 3738 п.н. У животного-носителя мутации (ВУС) (гетерозигота), на электрофореграмме видны две полосы: 409 п.н. – мутантный аллель и 3738 п.н. – нормальный аллель.

Образцы ДНК животных-носителей гаплотипов фертильности были использованы в качестве контрольных образцов для отработки и проведения молекулярно-генетических методов диагностики.

В белорусской популяции голштинизированной породы крупного рогатого скота нами выявлено носителей мутантного аллеля (ВУС), обуславливающего развитие брахиспины, – 0,05%.

А.Г. Михно¹, Е.А. Аксенова², А.В. Солнцева³

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНОТИПОВ ДЕТЕЙ С ОЖИРЕНИЕМ И НОРМАЛЬНОЙ МАССОЙ ТЕЛА ПО ПОЛИМОРФНЫМ ЛОКУСАМ ГЕНА РЕЦЕПТОРА ВИТАМИНА D

¹Учреждение здравоохранения «2-я городская детская
клиническая больница»

Республика Беларусь, 220020, г. Минск, ул. Нарочанская, 17

²Институт генетики и цитологии НАН Беларуси

Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27

e-mail: cytoplasmic@mail.ru

³Белорусский государственный медицинский университет

Республика Беларусь, 220116, г. Минск, пр. Дзержинского, 83

Введение: Рецептор витамина D (VDR) регулирует экспрессию более чем 3% генов человека, в том числе гены, которые отвечают за метаболизм глюкозы. В настоящее время проводится поиск генетических маркеров предрасположенности к ожирению среди известных однонуклеотидных полиморфных локусов гена *VDR*.

Цель: сравнить частоту встречаемости аллелей *ApaI* (A/a) (rs7975232), *TaqI* (T/t) (rs731236), *BsmI* (B/b) (rs1544410), *FokI* (F/f) (rs2228570) гена рецептора витамина D (VDR) у детей с ожирением и нормальной массой тела.

Материалы и методы: Проведено обследование 39 детей с алиментарным ожирением в возрасте от 11 до 17,9 лет, наблюдавшихся в УЗ «2-я городская детская клиническая больница» г. Минска с 2014 по 2017 гг. Возраст $13,11 \pm 2,29$ лет, ИМТ $31,66 \pm 5,36$ кг/м². Группа контроля: 102 детей с нормальной массой тела, возраст $14,03 \pm 2,23$ лет ($p=0,3$), ИМТ $19,51 \pm 3,43$ кг/м² ($p=0,001$). Для генотипирования детей по аллелям *ApaI* (A/a) (rs7975232), *TaqI* (T/t) (rs731236), *BsmI* (B/b) (rs1544410), *FokI* (F/f) (rs2228570) в гене рецептора витамина D (*VDR*) был использован метод аллель-специфичной ПЦР с помощью линейных разрушаемых проб (TaqMan).

Результаты: Показаны статистически значимые различия по частоте генотипов и аллелей *ApaI* (A/a) (rs7975232) *VDR* между мальчиками с ожирением и с нормальной массой тела. У мальчиков с ожирением с одинаковой частотой присутствовали, как

аллели A/a *ApaI* локуса (по 50%), так и гомозиготные генотипы по этим аллелям (по 26,3%). Тогда как у мальчиков контрольной группы преобладал аллель А (75,8%), соответственно генотип АА обнаружен у 57,6%, а генотип аа – всего у 6,1%.

При сопоставлении частоты встречаемости генотипов по всем изученным локусам гена *VDR* (*ApaI* (A/a) (rs7975232), *TaqI* (T/t) (rs731236), *BsmI* (B/b) (rs1544410), *FokI* (F/f) (rs2228570)) показаны статистически значимые (Хи-квадрат 34,28 при $P \leq 0,01$) различия между детьми с ожирением и с нормальной массой тела. Если в контрольной выборке наиболее частым (14,2%) был генотип TtAaVbFf, то у детей с ожирением с равной частотой (15,4%) обнаружены генотипы TtAaVbFf; TtAabbFf (в контрольной выборке 4,4%); TtAaVbff (6,2% у контроля). Генотип TtAaVbFF преобладал у детей с ожирением (10,3%) по сравнению с контрольной группой (0,9%).

Работа была выполнена при финансовой поддержке Республиканского фонда фундаментальных исследований (договор № М16-003).

Ю.А. Моголевцева¹, А.В. Мезенцев², С.А. Брускин²

АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ, ВЫЗВАННЫХ РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИЕЙ ММП1, В ЭПИДЕРМАЛЬНЫХ КЕРАТИНОЦИТАХ, ОБРАБОТАННЫХ ИНТЕРФЕРОНОМ- γ

*¹Российский государственный аграрный университет
(МСХА им. К.А. Тимирязева)*

Россия, 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49

²Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова (ИОГен РАН)

Россия, 117971, г. Москва, ул. Губкина, 3

e-mail: mesentsev@vigg.ru

Введение: Матриксные металлопротеиназы (ММП) играют ключевую роль в патогенезе ряда заболеваний, в частности, псориаза. При повышенной экспрессии ММП межклеточный матрикс становится более проницаемым, а межклеточные контакты – менее прочными. При псориазе индукция ряда ММП в пораженной болезнью коже способствует реорганизации эпидермиса, повышает проницаемость микрокапилляров дермы, а также стимулирует проникновение в кожу иммунных клеток.

Целью данной работы было исследовать возможные последствия РНК-интерференции матриксной металлопротеиназы 1 (ММП1) в эпидермальных кератиноцитах человека, обработанных интерфероном γ (IFN- γ).

Методы: В работе использовали иммортализованные эпидермальные кератиноциты человека HaCaT-ММП1, которые экспрессировали малую ингибирующую РНК, специфичную к ММП1, и HaCaT-КТР, которые экспрессировали контрольную малую ингибирующую РНК того же нуклеотидного состава. Изменения в экспрессии генов анализировали при помощи ПЦР в режиме реального времени. Оценка пролиферации клеток проводили путем анализа их кривых роста, оценку миграции – сопоставляя между собой репрезентативные фотографические изображения, полученные через равные промежутки времени.

Результаты: Экспрессия в эпидермальных кератиноцитах миРНК, специфичной к ММП1, приводит к снижению экспрессии целевого гена в 3 раза. Обработка клеток IFN- γ приводит к изменениям в экспрессии ряда генов, играющих важную роль в патогенезе псориаза: подавлению экспрессии *CCNA2* и *CCND1*,

а также к увеличению экспрессии *LOR*, *FLG*, *KRT1* -5 и -10, а также сопровождается снижением скорости пролиферации клеток и подавляет их миграцию.

Заключение: В проведенном исследовании было показано, что РНК-интерференция ММП1 обладает потенциальным терапевтическим эффектом, который может быть полезен для лечения псориаза. В условиях превышения физиологической концентрации IFN- γ «нокдаун» *MMP1* оказывает антипролиферативное действие на культивируемые эпидермальные кератиноциты, частично нормализуя экспрессию генов, контролирующих их дифференцировку: *KRT1*, -5 и -10, а также *LOR* и *FLG*.

Л.В. Можаровская¹, Л.Г. Коготько²

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА МИКОЗОВ ОЗИМОГО ЯЧМЕНЯ

¹Институт леса НАН Беларуси

Республика Беларусь, 246001, г. Гомель, ул. Пролетарская, 71

e-mail: milamozh@yandex.ru

²Белорусская государственная сельскохозяйственная академия

Республика Беларусь, 213407, Могилевская обл., г. Горки,

ул. Мичурина, 5

Озимый ячмень является одной из ценных зерновых культур Беларуси, занимающей около 10 тыс. га пашни. Среди биотических факторов, лимитирующих урожайность злаковых растений, наиболее значимыми являются инфекционные болезни, вызываемые фитопатогенными грибами. Для проведения успешных профилактических и защитных мероприятий, необходима точная идентификация фитопатогенов. С этой точки зрения наиболее точным и эффективным является использование молекулярно-генетических методов. В связи с этим целью работы являлась молекулярно-генетическая диагностика фитопатогенных грибов в растительных образцах озимого ячменя. Экспериментальный материал был предоставлен УО «БГСХА», молекулярно-генетический анализ проведен на базе лаборатории генетики и биотехнологии Института леса НАН Беларуси.

Исследуемые образцы характеризовались внешними признаками заболеваний: некротические изменения тканей корней и стеблей, пятнистость листьев, дехромация колосьев и остей зерна. В ходе молекулярно-генетической идентификации фитопатогенных грибов использовалась последовательность 18S-ITS1-5,8-ITS2-28S рДНК. Выбор данного маркера основан на широкой изученности рибосомального оперона грибов, высокой степени полиморфности и видоспецифичности.

По результатам ПЦР-диагностики, проанализированные образцы характеризовались полиинфекционным поражением. В результате секвенирования доминирующей микофлоры было идентифицировано 9 видов. В тканях корней присутствовали 4 вида: *Microdochium bolleyi*, *Microdochium sp.*, *Leptodontidium sp.*, *Fusarium oxysporum*. *Microdochium bolleyi* является возбудителем корневой гнили, *Microdochium sp.* филогенетически близкий

вид *M. bolleyi*. *Leptodontidium sp.* – ассоциированный с корнями вид, с неизвестным патогенным потенциалом. *Foxysporium* возбудитель фузариозной корневой гнили широкого спектра растений, включая зерновые культуры. В прикорневой части стебля также был обнаружен *M. bolleyi*. Ткани листьев были инфицированы двумя доминирующими видами: *Puccinia hordei* и *Rhynchosporium secalis*. *P. hordei* – патогенный грибок, вызывающий карликовую ржавчину ячменя. *Rh. secalis* возбудитель окаймленной пятнистости (ринхоспориоз) злаковых. В колосе на зернах и остях были обнаружены три вида грибов: *Alternaria infectoria*, *Cladosporium sp.*, *Itersonilia sp.* *A. infectoria* – патоген многих видов растений, для зерновых культур характерно поражение колоса. Диагностированный вид *Cladosporium sp.* характеризовался высоким генетическим сходством с *C. herbarum*, паразитическим микромицетом. Виды рода *Itersonilia* являются сапрофитами ряда растений, включая ячмень.

Полученные результаты о видовом составе фитопатогенов озимого ячменя согласуются с литературными данными. В дальнейшем планируется идентификация сопутствующей микрофлоры.

Работа выполнена в рамках гранта БРФФИ № Б17-146 «Фитопатогенный комплекс возбудителей болезней и приемы снижения его вредного воздействия на продуктивность агроценоза озимого ячменя».

П.М. Морозик¹, Э.В. Руденко², Е.В. Руденко³, О.Ю. Самоховец³,
Е.В. Нестеренко¹, П.В. Евлев¹, Л.А. Кундас¹

ВЗАИМОСВЯЗЬ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ОСТЕОПОРОЗА С ДЕСЯТИЛЕТНИМ РИСКОМ КОСТНЫХ ПЕРЕЛОМОВ

*¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: P.Marozik@igc.by*

*²Белорусский государственный медицинский университет
Республика Беларусь, 220116, г. Минск, просп. Дзержинского, 83*

*³Белорусская медицинская академия последипломного
образования
Республика Беларусь, 220013, г. Минск, ул. П. Бровки 3, корп. 3*

Остеопороз (ОП) – заболевание костной системы, характеризующееся повышенной хрупкостью костей и подверженностью переломам. Длительное время ОП может протекать бессимптомно, в связи с чем большое значение имеет своевременное выявление риска этого заболевания, а также риска костных переломов.

В мире наибольшее распространение поучил инструмент оценки риска переломов Fracture Risk Assessment Tool (FRAX®) – алгоритм, объединяющий значение клинических факторов риска перелома с информацией о минеральной плотности костей (МПК) или без нее. FRAX® представляет собой компьютеризированную методику определения 10-летней вероятности перелома проксимального отдела бедра (ПОБ) и/или другого значимого остеопоротического перелома (клинические переломы позвонков, бедра, предплечья или плечевой кости). Модели FRAX® разработаны на основе результатов популяционных исследований, проведенных во всем мире; с октября 2016 года в Республике Беларусь действует национальная версия калькулятора.

В настоящей работе был проведен анализ ассоциации единичных генетических маркеров, участвующих в метаболизме костной ткани, а также их аллельных комбинаций, с десятилетним риском основных переломов и переломов бедра, рассчитанных с помощью алгоритма FRAX®.

В исследовании приняли участие 42 женщины с тяжелым постменопаузальным остеопорозом, средний возраст – 60,5 (56,3; 64,8) лет. Клиническое обследование и забор биологии-

ческого материала проводились в Минском городском центре профилактики остеопороза. В качестве анализируемых генетических маркеров костного метаболизма были отобраны полиморфные варианты генов, определяющих МПК – гена рецептора витамина Д (*VDR*, rs7975232, rs1544410, rs731236) и коллагена (*COL1A1*, rs1800012 и *COL1A2*, rs42517).

Результаты генотипирования позволили выявить выраженную ассоциацию между риском костных переломов и полиморфным вариантом rs7975232: у носителей генотипа *C\C* по сравнению с носителями генотипа *A\A* более чем в 2,5 раза выше среднее значение 10-летнего абсолютного риска основных остеопоротических переломов ($10,3\% \pm 3,3$ и $4,1\% \pm 1,0$, $P=0,01$) и в 3,5 раза – риска переломов ПООБ ($1,3\% \pm 0,6$ и $4,6\% \pm 1,9$, $P=0,01$). На уровне тенденции выявлена аналогичная ассоциация для полиморфных вариантов *VDR* rs731236 и *COL1A2* rs42517. Проведенный анализ аллельных комбинаций генетических маркеров и их ассоциации с риском костных переломов FRAX® позволил выявить статистически значимые взаимосвязи для *VDR*, rs7975232, rs731236 и *COL1A2*, rs42517.

Внедрение генетического тестирования по выявленным маркерам в алгоритм FRAX® позволит более эффективно проводить оценку индивидуального риска костных переломов как у пациентов с остеопорозом, так и у других групп населения.

И.Б. Моссе, П.М. Морозик, К.В. Жур, П.В. Евлев

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТИ ЧЕЛОВЕКА

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: i.mosse@igc.by*

Роль генов, определяющих психоэмоциональное состояние людей, изучена крайне недостаточно. Между тем, оценка генетической составляющей стрессоустойчивости человека даёт возможность выявлять наиболее перспективных спортсменов и лиц экстремальных профессий (сотрудников спецназа и МЧС, пилотов, космонавтов, авиадиспетчеров и др.), а также разрабатывать индивидуальные тренировочные программы и методы психологической и фармакологической коррекции и реабилитации.

Одним из методов поиска генетических факторов, детерминирующих формирование индивидуальных особенностей, является выбор генов-кандидатов на основании их функциональной значимости. Этот подход предполагает исследование ассоциации признака с аллелями гена, вовлеченного в метаболические пути, связанные с этим признаком.

Анализ генетической предрасположенности к психоэмоциональной устойчивости различных профессиональных и контрольных групп проводили молекулярно-генетическим методом ПЦР по 6 полиморфным вариантам генов 5-HTTVNTR, 5-HTTLPR, DRD2, DRD4, HTR2A, NET серотонинергической, дофаминергической и норадренергической систем, вовлеченных в механизмы развития стресс-реакции. В качестве биологического материала была использована ДНК, выделенная из лейкоцитов цельной венозной крови. Проведенное психологическое тестирование с использованием HADS-теста, опросника Маслач и опросника Бойко позволило разделить испытуемых на группы, различающиеся по ряду психо-эмоциональных показателей.

Соотношение частот аллелей и генотипов в разных группах проверяли на соответствие равновесию Харди-Вайнберга с помощью критерия χ^2 Пирсона. Для оценки ассоциации между психоэмоциональным показателем и исследуемыми вариантами генов применяли коэффициент отношения шансов (OR) с 95% доверительным интервалом.

В результате исследований выявлены аллельные комбинации полиморфных вариантов генов, которые оказывают существенное влияние на стрессоустойчивость, статистически значимо повышая или снижая устойчивость к психоэмоциональным нагрузкам. Полученные данные вносят вклад в понимание молекулярно-генетических механизмов психологической устойчивости и могут быть использованы как для отбора кандидатов для экстремальной профессиональной деятельности, так и для формирования групп риска развития личностных расстройств с целью профилактики асоциального поведения и психических заболеваний.

К.К. Муқанов¹, А.Б. Шевцов¹, А.Н. Кузнецов²,
М.С. Сыздыков²

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ШТАММОВ *B. MELITENSIS* К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ В КАЗАХСТАНЕ

¹Национальный центр биотехнологии КН МОН РК
Республика Казахстан, 010000, г. Астана,
Коргальжинское шоссе, 13/5
mukanov@biocenter.kz

²Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций
имени Масгута Айкимбаева
Республика Казахстан, 50054, Алматы, Капальская ул., д. 14

Бруцеллез остается основным зоонозным заболеванием с ежегодной регистрацией вновь выявляемых случаев на уровне 500 тысяч. При этом основным возбудителем бруцеллеза людей является *B. melitensis*. Стратегия применения антибактериальных препаратов играет важную роль в эффективности лечения. Широко используемыми антибактериальными препаратами для этиотропного лечения бруцеллеза являются тетрациклины, триметоприм и сульфаметоксазол, аминогликозиды, рифампицин и фторхинолоны. Низкая эффективность и частые рецидивы привели к отказу от монотерапии и переходу на комбинированную схему лечения. Комбинация схем лечения не оказалась панацеей и случаи рецидивов продолжили регистрироваться, что может быть связано с развитием резистентности у бруцелл к применяемым этиотропным агентам. Изучение лекарственной чувствительности циркулирующих штаммов бруцелл может способствовать повышению эффективности лечения. Целью работы являлось изучение лекарственной чувствительности у штаммов *B. melitensis*, выделенных в Казахстане.

Штаммы бруцелл были изолированы от серопозитивных к бруцеллезному антигену пациентов (РА 1:200 и выше) в период 2008-2014 гг. Всего для изучения чувствительности к антибиотикам *in vitro* было отобрано 329 штаммов *B. melitensis*. Видовая идентификация была подтверждена мультиплексным ПЦР “Bruce-ladder”. Для определения минимальной ингибирующей концентрации использовали E-test.

Стрептомицин, тетрациклин и доксициклин показали лучшую противомикробную активность, все 329 штаммов *B. melitensis* были чувствительны к данным препаратам. К гентамицину 97,3% штаммов были чувствительны и только 2,7% были резистентны к данному антибиотику. Самая высокая резистентность наблюдалась к рифампицину. К данному препарату чувствительны только 37,4% штаммов, 21,9% штаммов с промежуточной резистентностью, 26,4% штаммов резистентны и 14,3% штаммов с МІС 1,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ не были включены ни в одну из указанных групп. Восемь из 9 штаммов, резистентных гентамицину, также были устойчивы к рифампицину.

Самые минимальные значения МІС50 и МІС90 наблюдались к тетрациклину и доксициклину, значения МІС90 составили 25% и 9,4% от порогового значения для чувствительных штаммов соответственно. Значения МІС90 для гентамицина и стрептомицина составили 75% и 37,5% от порогового значения для чувствительных штаммов соответственно. В то время как для рифампицина даже МІС50 превышал пороговое значение для чувствительных штаммов.

Высокая резистентность циркулирующих штаммов *B. melitensis* к рифампицину должна учитываться при составлении схемы лечения бруцеллеза.

Д.Э. Недзвецкая¹, С.А. Котова¹, А.О. Рябцева¹, А.Н. Файбич²,
П.А. Гештовт², И.С. Цыбовский¹

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА МИКРОСАТЕЛЛИТОВ ОЛЕНЯ БЛАГОРОДНОГО

¹ГУ «Научно-практический центр Государственного комитета
судебных экспертиз Республики Беларусь»

Республика Беларусь, 2200072, г. Минск, ул. Филимонова, 25
e-mail: nrc@sudexpertiza.by

²Научно-практический центр по охотоведению и управлению
ресурсами диких животных «Красный бор»

Республика Беларусь, Витебская обл., Верхнедвинский р-н,
д. Изубрица

Олень благородный (*Cervus elaphus*) представляет особый интерес для охотничьего хозяйства как ценный трофейный объект. Постоянный антропогенный пресс на протяжении длительного времени привел к полному либо частичному истреблению популяции оленей в Европе (XVII и XX вв.). Последующая реставрация (интродукция и реинтродукция) стад повлияла на генофонд Оленя в целом существенно больше, чем на другие коренные виды копытных. На территории Беларуси насчитывается около 17 тыс. особей Оленя благородного. Наиболее крупные группировки животных встречаются в западной и северной частях страны, менее всего заселены восточные регионы. В целом наблюдается рост количества Оленя в республике и как следствие этого увеличивается доля преступлений в отношении диких животных.

Целью проведенного исследования было изучение полиморфизма микросателлитных локусов для последующего использования в экспертно-криминалистической практике при идентификации отдельных особей Оленя.

Материалом для популяционно-генетических исследований послужили коллекционные образцы, собранные в осенне-зимний охотничий сезон 2010-2011 гг. и предоставленные сотрудниками Научно-практического центра по охотоведению и управлению ресурсами диких животных «Красный бор».

Изучение полиморфизма особей Оленя благородного проводили на основе 14 микросателлитов, содержащих в своей структуре тетра-нуклеотидные тандемные повторы (T108, T501,

CO1, T107, T26, T507, C143, C273, T172, T530, T123, C229, T193, C217) и одного локуса (VMC1009) с динуклеотидным тандемным повтором.

В общей сложности генотипировано 136 образцов Оленя из 13 районов. В ходе проведенного анализа было выявлено суммарно 200 аллелей. Наиболее полиморфными оказались локусы T26 (20 аллелей), T530 (19 аллелей), T193 (19 аллелей), T123 (16 аллелей), T108 (15 аллелей), CO1 (15 аллелей), T507 (15 аллелей), T172 (15 аллелей). Наименьший уровень полиморфизма выявлен в локусах C217 (3 аллеля) и C229 (6 аллелей). В локусах T501, T107, VMC1009, C273 и C143 количество выявленных аллелей варьировало в пределах от 8 до 14.

Проведенные исследования показали, что отобранные локусы являются полиморфными и могут быть использованы для целей идентификации животных вида Олень благородный на уровне особи. Дальнейшая работа в этом направлении обеспечит формирование базы данных и разработку методики для экспертного сопровождения дел о незаконной охоте на животных вида Олень благородный.

Н.А. Некрашевич, К.К. Яцевич, А.В. Кондратюк, О.Г. Бабак,
А.В. Кильчевский

ОЦЕНКА СЕЛЕКЦИОННОГО МАТЕРИАЛА ПО УСТОЙЧИВОСТИ К ВИРУСУ БРОНЗОВОСТИ ТОМАТА С ПОМОЩЬЮ МОЛЕКУЛЯРНОГО МАРКЕРА Sw5-2

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: N.Nekrashevich@igc.by*

В течение последнего десятилетия вирус бронзовости томата *Tomato spotted wilt virus (TSWV)* активно распространяется в разных географических зонах мира и приводит к значительным экономическим потерям на самых разных культурах. Среди видового состава вирусных заболеваний томата это заболевание относится к наиболее вредоносным и сложно контролируемым в распространении.

Тем не менее, доказана эффективность ведения селекции на создание устойчивых к *TSWV* генотипов с целью минимизации потерь. Разработка и применение молекулярных маркеров для выявления доноров устойчивости позволяет проводить этот отбор в сжатые сроки.

Формирование устойчивости к вирусу бронзовости томата связывают с генным кластером *Sw-5*, расположенным в теломерной области длинного плеча 9 хромосомы и состоящего из пяти паралогов, получивших обозначение от *Sw-5a* до *Sw-5e*. Исследования, проведенные А. Shi с соавторами, подтвердили функциональность гена *Sw-5b* в формировании устойчивости к *Tomato spotted wilt virus*. Для выявления генотипов, устойчивых к вирусу бронзовости томата, авторы рекомендуют использовать следующий праймер:

Sw5-f2: CGGAACCTGTAACCTTGACTG,

Sw5-r2: GAGCTCTCATCCATTTCCG.

В рамках наших исследований проведена апробация молекулярного маркера Sw5-2 и выполнено ДНК-типирование коллекции селекционного материала.

В результате амплификации с маркером Sw5-2 у образцов с наличием гена *Sw-5b* синтезировался специфический фрагмент длиной в 541 п.о., у остальных генотипов продукт амплифика-

ции отсутствовал. В результате проведенного скрининга выявлены доноры гена *Sw-5b*: дикая форма *Solanum corneliomulleri*, образцы Мишель и Израильский 291.

Следует отметить, что ранее в Республике Беларусь не велась работа по созданию сортов, устойчивых к вирусу бронзовости томата. На данный момент это направление селекции является приоритетным в связи с активным распространением патогена. Выделенные ценные образцы с наличием гена *Sw-5b* будут вовлечены в селекционный процесс для создания гибридов томата с комплексом генов качества и устойчивости.

Т.В. Никитинская¹, О.Г. Бабак¹, О.Н. Пышная²,
Л.В. Хотылева¹, А.В. Кильчевский¹

АДАПТАЦИЯ МЕТОДОВ ДНК-МАРКИРОВАНИЯ И ПОИСК ДОНОРОВ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ К ВИРУСНЫМ БОЛЕЗНЯМ У РОДА *CAPSICUM*

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: Nikitinskaja@yandex.ru

²Всероссийский НИИ селекции и семеноводства овощных
культур
Российская Федерация, 143086, Московская обл.,
Одинцовский р-н, пос. Лесной городок

Развитие вирусных болезней, практически не регулируемое методами химической защиты, является одной из важных причин снижения урожая и ухудшения качества плодов перца сладкого. В связи с этим целесообразным является создание форм перца с генами устойчивости к данному виду патогенов. Создание сортов, устойчивых к болезням, методами классической селекции – длительный процесс, так как гены резистентности (R-гены) чаще всего встречаются у диких форм, поэтому маркер-сопутствующая селекция позволяет значительно ускорить этапы поиска и отбора устойчивых к болезням форм. У перца описаны гены устойчивости к вирусу огуречной мозаики (ген *Cmr1*) и к Y-вирусу картофеля (ген *pvr1*).

Настоящая работа направлена на апробацию методов ДНК-типирования генов устойчивости к вирусу огуречной мозаики (CMV) и Y-вирусу картофеля (PVY), поиск доноров R-генов к этим заболеваниям и гибридизацию родительских форм перца для создания гибридов F₁ с комплексом R-генов.

В качестве экспериментального материала была использована 91 форма перца 4 видов (*C. annum*, *C. frutescens*, *C. chinense*, *C. baccatum*) рода *Capsicum* коллекции Института генетики и цитологии НАН Беларуси, ВНИИССОК (РФ) и ВИР (РФ).

Для поиска доноров устойчивости у рода *Capsicum* к вирусу огуречной мозаики был использован кодоминантный CAPS-маркер CaTm-int1-F/R_HinfI (Kang, 2010), к Y-вирусу картофеля – кодоминантный CAPS-маркер PVRL-F/R_BseNI (Paran, 2009).

В изучаемой коллекции R-аллель гена *Cmr1* был выявлен только у одной формы перца вида *Capsicum chinense*.

Особенностью гена *pvr1* является то, что один его аллель формирует у растений перца устойчивость к Y-вирусу картофеля, а второй к грибковому заболеванию – мучнистой росе (PM). Гетерозиготные формы являются устойчивыми и к Y-вирусу картофеля, и к мучнистой росе. В изучаемой коллекции перца устойчивым к Y-вирусу картофеля оказался только один сорт перца сладкого – Long Kao. Все остальные образцы были устойчивыми к мучнистой росе.

Таким образом, проведена апробация методов ДНК-типирования генов устойчивости к Y-вирусу картофеля, к мучнистой росе и к вирусу огуречной мозаики на изучаемой коллекции перца, выявлены генотипы-доноры R-генов и проведена гибридизация родительских форм перца для создания гибридов F₁ с комплексом R-генов (*pvr1* и *pm*).

**Т.В. Никитинская¹, Н.А. Невестенко², М.О. Моисеева²,
Т.В. Никонович², О.Г. Бабак¹, М.М. Добродькин²,
Л.В. Хотылева¹, А.В. Кильчевский¹**

ОЦЕНКА ГИБРИДОВ F₁ ПЕРЦА СЛАДКОГО И ИХ РОДИТЕЛЬСКИХ ФОРМ ПО БИОХИМИЧЕСКИМ ПРИЗНАКАМ ПЛОДОВ

*¹ Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: Nikitinskaja@yandex.ru*

*² Белорусская государственная сельскохозяйственная академия
Республика Беларусь, 213407, г. Горки, ул. Мичурина, 5*

Настоящая работа направлена на оценку созданных гибридов F₁ и родительских форм перца сладкого по комплексу биохимических признаков плодов и изучение особенностей проявления этих признаков у гибридов F₁.

В качестве экспериментального материала изучены 9 родительских форм и 16 гибридных комбинаций F₁ перца сладкого (схемы скрещивания 8 × 1 и 1 × 8), которые были проанализированы по содержанию сухого вещества, каротина, витамина С и растворимых углеводов. Особенности проявления признаков у гибридов оценивали по значению истинного гетерозиса и степени доминирования. В качестве стандарта был использован сорт перца Тройка.

Содержание сухого вещества у гибридных комбинаций колебалось от 8,09 до 9,43%. Максимальное значение признака отмечено у родительской формы Черный красавец – 9,43%. Превосходство над лучшим родителем по данному признаку наблюдалось у 50% гибридов. По содержанию каротина лучшими были гибридные комбинации Л 140/0×Л 45-11, Л 45-11×Желтый букет – 31,5 мг/кг и 52,67 мг/кг, соответственно. Истинный гетерозис по данному признаку наблюдался у 25% гибридов. Его максимальное значение выявлено у гибрида Л 45-11×Желтый букет и составило 93,9%. По содержанию витамина С выделены лучшие гибридные комбинации: Л 45-11×Желтый букет и Л 80×Л 45-11 со значениями показателя 124,47 мг/100 г и 120,25 мг/100 г. Превосходство над лучшим родителем выявлено у 50% гибридов. Лучшими по содержанию растворимых углеводов были три гибридные комбинации: Л 45-11×Л 160-10,

Л 45-11×Черный красавец, Л 45-11×Желтый букет. У гибрида Л 45-11×Желтый букет значение истинного гетерозиса было наибольшим (46,4%). Положительные значения истинного гетерозиса по данному признаку были выявлены у 33% гибридных комбинаций.

Плоды гибрида Л 45-11×Желтый букет характеризовались сочетанием ценных биохимических свойств, значения которых превосходили стандарт по всем признакам (содержание сухого вещества на 13,1%, каротина – на 94,7%, витамина С – на 18,7%, углеводов – на 42,6%). У гибрида F₁ Л 45-11×Л 160-10 превосходство над стандартом наблюдалось по трем изучаемым признакам (содержание сухого вещества – на 21,1%, витамина С – на 23,5%, углеводов – на 40,7%).

Таким образом, установлены особенности проявления гетерозиса по изучаемым признакам, проведена оценка гибридных комбинаций и их родительских форм по биохимическим признакам плодов, выделены перспективные для дальнейшего использования в селекционном процессе на качество плодов гибриды F₁.

Е.А. Николайчик

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ФИТОПАТОГЕНОВ РОДА *PECTOBACTERIUM* С РАСТЕНИЯМИ: ВОЗМОЖНОСТИ ГЕНОМНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

Белорусский государственный университет
Республика Беларусь, 220030, г. Минск, пр. Независимости, 4
e-mail: nikolaichik@bio.bsu.by

Развитие геномики, и в первую очередь наличие полного каталога генов как растений, так и их патогенов, открыло новые перспективы для исследований в области молекулярной фитопатологии. Особенно ценными геномные подходы оказываются при исследовании немодельных объектов, к которым можно отнести культивируемые растения сем. Пасленовые и их патогены из рода *Pectobacterium*.

Расшифровка четырех полных геномных последовательностей изолированных в Беларуси штаммов пектобактерий и их сравнение с геномами других пектобактерий показала, что:

- штаммы, классифицируемые сегодня как *P. carotovorum*, имеют слишком большие отличия по структуре своих геномов, что требует разделить этот вид не менее чем на 4 новых;

- геномы различных изолятов других видов пектобактерий (в том числе и актуального для Беларуси специализированного патогена картофеля *P. atrosepticum*) довольно единообразны, а основные отличия между ними сводятся к мобильным компонентам генома (транспозонам, профагам и плазмидам), которые в большинстве случаев являются штаммоспецифичными, что свидетельствует об активном горизонтальном переносе информации между этими бактериями;

- пангеном пектобактерий является закрытым, т.е. имеет верхний предел числа генов, доступного для горизонтального переноса среди пектобактерий, на уровне 8000 при типичном для отдельного взятого штамма числе генов около 4500.

Сравнительный анализ геномов пектобактерий позволил выделить как видоспецифические, так и штаммоспецифические факторы вирулентности. Экспериментальные исследования выявленных с помощью сравнительной геномики факторов вирулентности показали сложный характер взаимодействия пектобактерий с растениями и выявили активное вмешательство

патогена в работу иммунной системы растения за счет доставки в клетки растений эффекторных белков и гормоноподобных соединений. Дрожжевой двухгибридный скрининг позволил обнаружить рецепторные протеинкиназы, с которыми специфически взаимодействует основной эффекторный белок пектобактерий, а транскриптомные исследования показывают прицельное ингибирование экспрессии определенных подсемейств рецепторных протеинкиназ картофеля в клубнях, инфицированных *Pectobacterium carotovorum*.

Инактивация генов цитоплазматических сигнальных компонентов иммунной системы позволила выявить сигнальные пути, используемые растениями для детекции *Pectobacterium* spp.

Новая информация о молекулярных механизмах, лежащих в основе распознавания растениями патогенов рода *Pectobacterium*, а также о механизмах подавления патогеном иммунитета растения закладывает фундаментальную основу для практической работы в направлении повышения устойчивости к бактериозам хозяйственно ценных растений сем. Пасленовые.

Т.В. Никонович¹, П.Ю. Колмаков², И.Е. Зайцева¹,
Г.Г. Пирханов², А.Ю. Леонов²

ОСОБЕННОСТИ ЭКСТРАКЦИИ ДНК ИЗ РАСТЕНИЙ ВИНОГРАДА, КУЛЬТИВИРУЕМЫХ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO* ПРИ РАЗЛИЧНОМ СВЕТОДИОДНОМ ОСВЕЩЕНИИ

¹Белорусская государственная сельскохозяйственная академия
Республика Беларусь, 213410, Могилевская обл., г. Горки,
ул. Мичурина, 5
e-mail: tvnikonovich@gmail.com

²Витебский государственный университет имени
П.М. Машерова
Республика Беларусь, 210038, г. Витебск, пр. Московский, 33
e-mail: pavel_kolmakov@list.ru

В настоящее время существует множество методов выделения ДНК из растений. Основной проблемой при этом является сложность получения чистого препарата ДНК, поскольку растительные экстракты содержат много полисахаридов, пигментов и танинов, от которых трудно очистить ДНК. При выборе метода выделения ДНК учитываются цели, а также стоимость и трудоемкость процесса. Целью нашей работы являлась оптимизация методики выделения ДНК для выявления генетического полиморфизма у различных сортов винограда в культуре *in vitro* в условиях моно- и смешанных спектров светодиодного освещения. Исследования выполнены в 2017 г. на базе кафедры сельскохозяйственной биотехнологии, экологии и радиологии, генетических лабораторий УО БГСХА и ВГУ имени П.М. Машерова при финансовой поддержке ФФИ Республики Беларусь в рамках проекта № Б 17-155: «Оценка морфогенеза и функционального состояния ферментов RedOx-системы винограда в культуре *in vitro* и *ex vitro* при различном светодиодном освещении».

Исходным материалом для проведения ДНК-анализа служили образцы сортов винограда, культивируемые в условиях *in vitro* при различном светодиодном освещении. В межфакультетской генетической лаборатории УО БГСХА материал проходил регистрацию в установленном порядке. Для выделения ДНК, в связи со спецификой проведения RAPD-анализа, использовались исключительно живые объекты исследования, поскольку

амплифицированные фрагменты ДНК из гербарного материала не поддаются визуализации в ультрафиолетовом спектре. Образцы подвергались пробоподготовке: измельчению и лизису клеточной массы. Экстракцию тотальной ДНК проводили фенол-хлороформным методом, адаптированным под данный технологический процесс. Навеску биоматериала брали из расчета на 500 мкл экстракционного буфера. В дальнейшем, эппендорфы с биоматериалом инкубировались в термостате в течение 30 минут при температуре 40 °С, а не 65 °С, как рекомендовано в стандартной методике. После обработки 500 мкл фенол-хлороформной смесью, пробы центрифугировали 10 минут при 10 000 об/мин. Осаждение ДНК осуществлялось 96% этиловым спиртом до образования характерного осадка. В дальнейшем, на следующих стадиях эксперимента использовали центрифугирование на сравнительно небольших оборотах, в отличие от рекомендаций стандартной методики, позволяющей облегчать промывку осадка тотальной ДНК. Очистка от РНК производилась раствором РНК-азы, приготовленным на SSC-буфере.

Концентрация выделенных нуклеиновых кислот в растворе количественно измерялась при помощи спектрофотометра Nanophotometer P-300 на базе научно-исследовательской лаборатории ПЦР-анализа ВГУ имени П.М. Машерова. Полученная чистота и качество ДНК являются пригодными для проведения RAPD-анализа и электрофореза с последующей интерпретацией полученных результатов.

О.А. Орловская, С.И. Вакула, Л.В. Хотылева,
А.В. Кильчевский

ВЫЯВЛЕНИЕ АЛЛЕЛЕЙ ЛОКУСОВ ГЕНА *WAXU*, АССОЦИИРОВАННЫХ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ АМИЛОПЕКТИНА В ЗЕРНЕ КУКУРУЗЫ

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: O.Orlovskaya@igc.by

В Беларуси кукуруза главным образом представляет интерес для производства зернофуража, однако в последнее время растет интерес к использованию данной культуры и в качестве сырья для промышленной переработки. В нашей стране зерно кукурузы заготавливают в первую очередь для переработки на крахмал, качество которого зависит от его состава. Крахмал представляет собой смесь двух полисахаридов – амилозы и амилопектина, различающихся строением цепи молекулы. Наибольшую практическую ценность представляет крахмал восковидной кукурузы с высоким содержанием амилопектина. Такой крахмал имеет более высокую вязкость, относительно низкую температуру клейстеризации, его водные растворы более прозрачны и имеют тянущуюся консистенцию. Соотношение амилозы и амилопектина в составе крахмальных зерен кукурузы определяют аллельные варианты гена *ae1*, кодирующего изоформы крахмалразветвляющего фермента (SBE), и гена *waxu*, кодирующего крахмалдеразветвляющий фермент (SDBE). Цель нашего исследования – выявить аллели локусов гена *waxu*, ассоциированные с высоким содержанием амилопектина в зерне кукурузы.

В коллекции 33 образцов кукурузы с различным уровнем накопления амилозы и амилопектина в зерне проведен анализ размерных вариантов микросателлитных локусов *phi022*, *phi027*, *phi061* гена *waxu*, полиморфизм которых может быть ассоциирован с фенотипическим эффектом мутаций, нарушающих функции гена. В коллекции выявлено по два аллельных варианта локусов *phi022* (*phi022*₁₃₄, *phi022*₁₄₀) и *phi061* (*phi061*₈₆ и *phi061*₉₄), три аллеля – для локуса *phi027* (*phi027*₁₅₀, *phi027*₁₅₃, *phi027*₁₆₂). Статистический анализ не показал значимой ассоциации между вариантами локусов *phi022*, *phi027*, *phi061* и уровнем амилопек-

тина в зерне изученных образцов кукурузы. Распределение гаплотипов гена *waxy* по группам образцов с высоким и низким содержанием амилопектина неравномерно. Так в группе образцов восковидной кукурузы представлены аллельные сочетания phi022_{140} phi061_{94} phi027_{150} и phi022_{140} phi061_{94} phi027_{15} , но отсутствуют варианты phi022_{134} phi061_{86} phi027_{150} и phi022_{134} phi061_{86} phi027_{153} , широко представленные в группе генотипов с диким вариантом гена *Waxy*. Выявленная ассоциация между вариантами достоверна. Таким образом, для маркер-ассоциированного отбора образцов кукурузы с высоким накоплением амилопектина в эндосперме зерна интерес представляют не отдельные аллельные полиморфизмы локусов phi022 , phi027 , phi061 , а уникальные сочетания аллелей, ассоциированные с целевым признаком.

Выявленные уникальные сочетания аллелей локусов phi022 , phi027 , phi061 можно использовать для отбора генотипов кукурузы с высоким содержанием амилопектина в зерне, которые представляют интерес для селекционных программ кукурузы, направленных на повышение качества зерна.

Т.В. Печковская¹, А.В. Якимович², М.Н. Шаптуренко¹,
Ю.М. Забара², Л.В. Хотылева¹, А.В. Кильчевский¹

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ОБРАЗЦОВ КАПУСТЫ БЕЛОКОЧАННОЙ ПО ЛОКУСУ САМОНЕСОВМЕСТИМОСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДНК-МАРКИРОВАНИЯ

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: t.pechkovskaya@igc.by

²РУП «Институт овощеводства»
Республика Беларусь, 223013, Минский р-н, аг. Самохваловичи,
ул. Ковалева, 2

Самонесовместимость, или неспособность к самооплодотворению фертильного растения после самоопыления широко распространена среди покрытосеменных. В процессе эволюции механизм самонесовместимости привел к обеспечению поддержания разнообразия внутри вида как основы адаптации к изменяющимся условиям окружающей среды. Генетически самонесовместимость классифицируется на гаметофитную и спорофитную. Капуста белокочанная (*Brassica oleracea* var. *capitata* L. f. *alba* DC) относится к растениям с спорофитным типом самонесовместимости. Наличие системы самонесовместимости широко используется в селекции при создании гибридов, поскольку это один из наиболее эффективных способов повышения урожайности в растениеводстве. Применение самонесовместимости, в свою очередь, предполагает наличие выровненного исходного материала. Создание и поддержание чистых линий традиционно основано на данных фенотипической оценки. Применение молекулярно-генетических методов позволяет решить проблему отбора генетически выровненного селекционного материала.

В данной работе предпринята попытка выявить эффективные генетические маркеры для дифференциации селекционных образцов (линии Apt1, TR6, Upt6, Арк, Khal, Alf, Дт 46 и Rot) капусты белокочанной, созданных в Институте овощеводства, с различной степенью проявления самонесовместимости.

Для идентификации аллелей локуса самонесовместимости (S-локуса) использовали разработанный Zeng и Cheng (2014) микросателлитный (SSR) маркер (F: 5'-TACGTCAGA-

TTGAATGCTGCTG-3’; R: 5’-GTAACACCACCTCGTTCATT-AG-3’), сцепленный с геном SRK (S-locus receptor kinase), экспрессирующимся в папиллярных клетках рыльца. Данный маркер позволяет провести дифференциацию растений *Brassica oleracea* и *Brassica rapa* на классы S-гаплотипов. Гаплотипы класса I характеризуются наиболее высокой степенью самонесовместимости (завязываемость – 10 семян/стручок), в сравнении с классом II (завязываемость – 10-30 семян/стручок) (Nasrallah et al., 1991).

При изучении фенотипического проявления признака самонесовместимости, осуществляемого на основе подсчета семян, определили, что при гомоклином опылении экспериментальных образцов завязываемость составила от 0 до 13,2 семян/стручок. Среди селекционных линий капусты белокочанной у Дт46 не завязалось ни одного семени, а наибольшее количество семян/стручок получено у Арк (13,2). В итоге ПЦР с маркером к гену SRK линии капусты белокочанной Apt1, TR6, Upt6, Арк, Khal и Alf отнесены к классу I, а Дт 46 и Rot – к классу II. Сравнительный анализ полученных результатов показал, что молекулярно-генетическая дифференциация линий на гаплотипы классов I и II самонесовместимости согласуется с данными фенотипической оценки с некоторым смещением ее уровня и может быть использована для отбора самонесовместимых форм капусты белокочанной.

Г.М. Порубова, С.Н. Сиренко, И.В. Демянцева

ГЕРМИНАЛЬНЫЕ МУТАЦИИ В ГЕНАХ *BRCA1/BRCA2* И ОНКОРИСК У ИХ НОСИТЕЛЕЙ

*Минский городской клинический онкологический диспансер МЗ РБ
Республика Беларусь, 220013, г. Минск, пр. Независимости, 64
e-mail: Porubovagm@mail.ru*

Выявление герминальных мутаций, ответственных за повышенный наследственный риск рака молочной железы (РМЖ) и яичников (РЯ) у женщин (середина 90-х годов XX века) и локализации их в высокопенетрантных генах *BRCA1* и *BRCA2* положило начало исследованию роли этих мутаций в возникновении других локализаций злокачественных новообразований. Мутации в этих генах ответственны за 60-70% наследственных форм РМЖ. При мутациях *BRCA1* риск РМЖ к 70 годам составляет примерно 57-72%, риск РЯ – 35-44%, при мутации *BRCA2* – 48-69% и 17-23%, соответственно. На 38-44% у носителей повышен риск развития рака во второй молочной железе. Кроме того при носительстве этих мутаций наблюдается повышенный риск рака желудка, поджелудочной железы, толстой кишки, головного мозга, меланомы, рака простаты (в 5-8 раз выше популяционно-го) и молочной железы (6-8% при *BRCA2*) у мужчин.

Распространенность мутаций варьирует от 1:300 до 1:800. В европейской популяции превалирует insC в гене *BRCA1*. Гаплотипирование свидетельствует, что эта мутация возникла у индивида, проживающего в Скандинавии или на севере России около 1800 лет назад, и распространилась по Европе, а затем в странах Азии (Hall M.J., 2017).

Своевременное выявление носительства мутаций дает возможность для проведения профилактических мероприятий в группах наследственного онкориска, ранней диагностике заболевания и выбора наиболее эффективного метода лечения.

В Минском городском клиническом онкологическом диспансере проводится генетический скрининг по выявлению носительства герминальных мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2* среди населения г. Минска (метод ПРОНТО *BRCA*). Среди 1320 обследованных лиц выявлено 382 носителя мутаций (мутации *BRCA1* 5382ins C – 78%, *BRCA1* 185del AG – 17%, *BRCA2* 6374 delT – 5%).

Герминальные мутации наследуются как по женской, так и по мужской линиям, поэтому для молекулярно-генетического тестирования приглашаются все родственники I-й, II-й и III-й степеней родства пробандов, как женщины, так и мужчины.

Однако, как свидетельствуют литературные данные и наши наблюдения, существует значительная диспропорция в количестве прошедших обследование и молекулярно-генетическое тестирование женщин и мужчин из онкоотягощенных семей.

Мужчины из онкоотягощенных семей не только исключительно редко самостоятельно обращаются на генетическое консультирование, но и крайне неохотно являются на обследование по приглашению генетика.

Сложившаяся ситуация значительно сокращает количество лиц, подлежащих молекулярно-генетическому тестированию и, как следствие, специализированному медицинскому диспансерному наблюдению. Решение вопроса, очевидно, в активном информировании, как медицинских работников, так и населения о важности молекулярно генетического тестирования в ранней диагностике наследственных форм рака.

М.В. Пучинская

**НЕКОТОРЫЕ МЕХАНИЗМЫ УЧАСТИЯ
РЕЦЕПТОРОВ ПОЛОВЫХ ГОРМОНОВ
В РЕГУЛЯЦИИ ЭПИТЕЛИАЛЬНО-
МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО ПЕРЕХОДА**

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»
Республика Беларусь, 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83
e-mail: puchinskaya_m@mail.ru*

Эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) является начальным механизмом инвазии и метастазирования опухолей. В его регуляции участвует большое число сигнальных каскадов. Половые гормоны (андрогены и эстрогены) и их рецепторы (РПГ) также активно участвуют в регуляции ЭМП, в том числе посредством взаимодействия с регулируемыми ЭМП транскрипционными факторами (ЭМП-ТФ). Наиболее изучено влияние рецепторов эстрогенов (РЭ) на ЭМП в раке молочной железы (РМЖ) и рецепторов андрогенов (РА) – в предстательной (РПЖ).

В РМЖ отмечена высокая экспрессия ЭМП-ТФ в опухолях с отсутствием экспрессии РЭ. В эксперименте Twist снижал экспрессию РЭ α , что способствовало гормон-резистентности клеток. Одним из предполагаемых механизмов является активация Twist деацетилазы гистонов, что ведет к подавлению активности промотора гена РЭ. Подавлять экспрессию гена РЭ α может также Snail. В свою очередь, эстрогены посредством РЭ α способны повышать экспрессию Snail и Slug и запускать ЭМП в раке яичников, причем данный эффект снижался в присутствии РЭ β . В РМЖ, однако, РЭ α снижал экспрессию Slug посредством прямого торможения транскрипции гена *SNAIL2* при связывании комплекса РЭ α -HDAC1-N-CoR и путем инактивации GSK3 β . В РМЖ с повышением экспрессии Snail было связано снижение чувствительности к эстрогенам, а положительным его регулятором был NF- κ B. В трижды негативном РМЖ снижение ZEB1 приводило к подавлению экспрессии РА, и наоборот.

В РПЖ индукция ЭМП при андрогендепривации впервые была показана в работе Sun Y. et al. Впоследствии, однако, в разных экспериментальных системах было показано как стимулирующее, так и тормозящее влияние снижения уровня андрогенов на ЭМП. Дигидротестостерон посредством РА повышал экспрес-

сию ZEB1 при связывании с двумя андроген-чувствительными элементами в промоторной области гена. Van der Poel H.G. показал взаимоисключающие эффекты RA и Smad (ТФ, являющегося эффектором сигнального пути трансформирующего ростового фактора β (ТРФ β)). ТРФ β может также снижать уровень РЭВ и его активность. Взаимодействие ЭМП-ТФ и РА в РПЖ имеет и клиническое значение. Так, повышенная экспрессия Snail наблюдалась в клетках рака простаты, резистентных к антиандрогену энзалутамиду, что было связано с повышенной экспрессией РА и его варианта AR-V7. В то же время воздействие энзалутамида значительно повышало экспрессию ЭМП-ТФ (ZEB1, ZEB2, Snail, Twist и FOXC2) в РПЖ. Гиперэкспрессия Twist и РА в ответ на окислительный стресс может быть одним из механизмов кастрационной резистентности РПЖ.

Таким образом, в настоящее время известны различные механизмы сложных взаимных влияний ЭМП-ТФ и РПЖ, которые могут зависеть от типа рецептора или опухоли. Тем не менее понимание важной роли гормональных воздействий в развитии ЭМП ведет к активному поиску терапевтических воздействий на ЭМП-ТФ и РПЖ, что позволит воздействовать на гормонорезистентные опухоли.

М.В. Пучинская

ТРАНСКРИПЦИОННЫЕ ФАКТОРЫ, РЕГУЛИРУЮЩИЕ ЭПИТЕЛИАЛЬНО- МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЙ ПЕРЕХОД

*УО «Белорусский государственный медицинский университет»
Республика Беларусь, 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83
e-mail: puchinskaya_m@mail.ru*

Эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) в настоящее время считается одним из важнейших механизмов метастазирования опухолей и приобретения ими лекарственной устойчивости. В регуляции данного процесса участвуют многие сигнальные пути, влияющие на транскрипционные факторы (ТФ), которые изменяют экспрессию ряда генов и тем самым реализуют программу ЭМП в клетках. Основными и наиболее изученными ТФ, регулирующими процесс ЭМП (ЭМП-ТФ), являются ZEB1, ZEB2, Snail, Slug и Twist. Они могут тормозить экспрессию E-кадгерина, непосредственно связываясь с E-регионом в промоторной области его гена (Smad, Snail, Slug, ZEB1, ZEB2) либо иными непрямыми механизмами (Twist).

Snail (SNAIL1) и Slug (SNAIL2) относятся к суперсемейству ТФ Snail. Основной механизм действия Snail – ингибирование экспрессии гена E-кадгерина посредством связывания «цинковых пальцев» белка с E-зонами в промоторной области гена *CDH1*. В эксперименте эктопическая экспрессия Snail индуцировала ЭМП за счет прямой репрессии E-кадгерина. Кроме того, Snail может активировать ряд онкогенных сигнальных путей, включая Akt, MAPK и uPA/uPAR. Becker K.-F. et al. провели анализ публикаций, посвященных экспрессии Snail в раках различной локализации, и отметили, что этот фактор, вероятно, играет определенную роль в гормонально-зависимых раках, но его значение в опухолях желудочно-кишечного тракта может быть намного меньше. В то же время отмечено, что порог активности Snail, необходимый для поддержания инвазивного фенотипа, может различаться в разных опухолях. Повышенная экспрессия Snail имела неблагоприятное прогностическое значение при раке молочной железы, яичников, пищевода, кишечника, немелкоклеточном раке легкого, уротелиальном раке верхних мочевых путей. Экспрессия Snail повышалась также при почечном фиброзе.

Twist1 является членом семейства основных белков, имеющих в составе структуру спираль-петля-спираль. Способен связываться с E-зонами. Имеются также данные о его роли в повышении экспрессии N-кадгерина. Twist способствует метастазированию опухолей без влияния на рост первичного очага. Гиперэкспрессия *TWIST* отмечена в раках молочной и предстательной железы, пищевода, желудка, печени, легкого, кожи, матки, мочевого пузыря, меланоме, остео- и рабдомиосаркоме. Она предсказывает безрецидивную выживаемость при раке предстательной железы.

Ряд ЭМП-ТФ также играют роль в поддержании свойств опухолевых стволовых клеток (ОСК). Так, в эксперименте повышение экспрессии Twist и Snail приводило к индукции ЭМП в клетках и приобретению ими свойств РСК. В свою очередь, сигнальные пути и связанные с ними ТФ, регулирующие стволовость (Wnt, Notch, Hedgehog), способны к индукции ЭМП.

Кроме того, ЭМП-ТФ участвуют в регуляции ряда клеточных процессов, осуществляя связь между ними и ЭМП. Например, Twist обладает антиапоптотическим эффектом, тормозя экспрессию p53-индуцируемых генов и повышая Akt2.

Таким образом, изменение транскрипции *CDH1* и других генов посредством ЭМП-ТФ является основным механизмом регуляции ЭМП в раковых клетках, в связи с чем воздействие на ЭМП-ТФ представляется перспективным направлением для разработки новых противоопухолевых средств.

Ш.Д. Саидмурадов, М.М. Якубова

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ГМ-РАСТЕНИЙ НА ОКРУЖАЮЩУЮ СРЕДУ, БИОРАЗНООБРАЗИЕ И АГРОБИОРАЗНООБРАЗИЕ

*Центр инновационной биологии и медицины АН РТ
Республика Таджикистан, 734017, г. Душанбе, ул. Каримова, 27
e-mail: shavkat_said777@mail.ru, mukhiba@mail.ru*

Исследования в области биологической безопасности в Таджикистане осуществляются с учётом концепции устойчивого развития страны.

Как известно, проблема биобезопасности направлена на то, чтобы, создать условия для максимального использования достижений современной генетики и биотехнологии и в то же время гарантировать безопасность природных экосистем (включая сохранение и устойчивое использование биоразнообразия) и здоровья человека при осуществлении генно-инженерной деятельности.

Имеющаяся в настоящее время материально-техническая база биологических учреждений не в полной мере соответствует современным критериям чувствительности, скорости действия и эффективности. До настоящего времени в стране не имелись специализированные научные учреждения, осуществляющие мониторинг и оценку биобезопасности генетически изменённых живых организмов (ГМО, ЖИО) на уровне международных стандартов. Научные исследования по разработке и организации выпуска новейших средств и технологий идентификации ГМО растений, животных и их продуктов, практически не финансируются. В стране отсутствует официальная информация, связанная с ввозом, разведением, производством, использованием и распространением ГМ-растений и других живых изменённых организмов. Более того, значительных научных исследований по оценке риска, которые представляют собой ГМО для природных экосистем и человеческого здоровья, до настоящего времени в Таджикистане не наблюдались.

Целью наших исследований является разработка инновационных подходов и методов изучения и оценки биобезопасности ГМ-растений и их воздействие на природные экосистемы и агробиоразнообразие. В связи с этим, на начальном этапе деятельности нами проделана следующая работа:

- На основании договоров о сотрудничестве с НИИ «Зироткор», Центром генетических ресурсов ТАСХН РТ, другими научно-производственными учреждениями страны, а также с научными центрами других стран – Институтом генетики и цитологии НАН Беларуси, ИЦиГ СО РАН создан банк генетических ресурсов основных сельхозкультур (кукуруза, пшеница, соя, сорго и ряд овощных культур), создана коллекция чистых линий дрозофилы и арабидопсиса.
- Изучен международный опыт по био- и пищевой безопасности, проведен мониторинг и анализ законодательных и нормативных актов и на основании этого в правительство страны представлены соответствующие предложения и рекомендации по внесению изменений и дополнений в законодательные и нормативные документы и материалы по контролю и регулированию оборота ГМО в Таджикистане для рассмотрения.
- Ведутся исследования по влиянию ГМ-растений (модельных) и их продуктов на окружающую среду, биоразнообразие: оценка риска проникновения ГМ-растений и семян в природную среду и их воздействие на естественные популяции (изменение динамики популяций, наследование генов в потомстве и их переноса в другие организмы, возможность возникновения рекомбинаций, фенотипических изменений и т.д.); оценка действия модифицированных генов на адаптивные механизмы, продуктивность и устойчивость растений к экстремальным факторам среды и заболеваниям.

М.А. Сасинович¹, А.М. Слуквин¹, А.В. Алехнович²

**ПЕРВЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ СРАВНИТЕЛЬНОГО
ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПОПУЛЯЦИЙ
ДЛИННОПАЛОГО РАКА (*ASTACUS
LEPTODACTYLUS* ESCH.) В ОЗЕРАХ
БРЕСТСКОЙ ОБЛАСТИ**

¹*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: marina.sasinovich@yandex.ru, A.Slukvin@igc.by*

²*ГНПО «Научно-практический центр НАН Беларуси по
биоресурсам»
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: alekhnovichav@gmail.com*

Научные исследования по видовой идентификации и изучению генетического полиморфизма у длиннопалого рака, обитающего в водоемах страны, имеют важное теоретическое и практическое значение, как для оценки биологического разнообразия в популяциях, ревизии видового состава, обнаружения возможных межвидовых гибридов, оценки устойчивости к болезням, так и для разработки практических мероприятий по увеличению промысловых запасов и рациональной добыче этого деликатесного дорогостоящего пищевого объекта в водоемах Беларуси.

Цель работы – оценить возможности использования двух митохондриальных генов (*COI* и *16s rRNA*) для проведения работ по видовой идентификации и изучению генетического полиморфизма в популяциях длиннопалого рака в озерах Соминское (Ивацевичский район, Брестской области) и Олтуш (Малоритского района, Брестской области), которые географически находятся на удалении 209 км друг от друга.

Материалом для работы послужили биологические пробы длиннопалого рака (16 экз. из озера Олтуш и 15 экз. из озера Соминское), собранные к.б.н. Алехновичем А.В. ДНК из биологических проб выделяли стандартным фенол-хлороформным методом. Концентрацию и чистоту выделенной ДНК определяли на спектрофотометре NanoPhotometer P360 (Implen, Германия). Качество выделенной ДНК проверяли электрофоретически в 1% агарозном геле. Для определения вида раков и изучения генетического полиморфизма в популяциях были выбраны последова-

тельности митохондриальной ДНК, а именно, фрагменты гена мтДНК COI (680 п.н.) и 16S рРНК (530 п.н.), представленные в литературе и Genbank. Все праймеры были синтезированы в ОДО «Праймтех» (Минск). ПЦР осуществляли с использованием амплификатора C1000™ ThermalCycler (Bio-Rad, США). Проведение капиллярного электрофореза осуществлялось в Центре геномных биотехнологий Института генетики и цитологии НАН Беларуси.

Результаты электрофореза анализировались с помощью программы MEGA7.

При оценке видовой принадлежности раков по гену *COI* было установлено, что в обоих озерах обитает вид десятиногих раков – длиннопалый рак (*Astacus leptodactylus* Esch.) (с вероятностью 99%). Продемонстрировано также, что в целом ген *COI* характеризуется достаточно низкой внутривидовой генетической вариабельностью. Установлено, что у раков из озера Олтуш она была в 1,4 раза ниже, чем у раков из озера Соминское (1,42% и 2,04%, соответственно).

Относительно генетической вариабельности гена *16s rRNA*, был установлен очень высокий уровень полиморфизма в популяциях раков для обоих озер (25,6% для озера Соминское и 60,1% для озера Олтуш), что, согласно последним литературным данным, является характерным для генов митохондриального генома среди гидробионтов при отборе на адаптацию к экстремальным условиям среды обитания.

Собранная коллекция биологических образцов и ДНК длиннопалого рака передана в Республиканский банк ДНК человека, животных, растений и микроорганизмов (акты от 21.11.2016 г.).

Н.Г. Седляр, И.Б. Моссэ, А.Л. Гончар

РОЛЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА АПОЛИПРОТЕИНА E (APOE) В ЭТИОЛОГИИ НЕВЫНАШИВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: n.osennij@gmail.com*

Важное место среди факторов риска невынашивания беременности занимает носительство тех или иных аллелей генов, которые могут видоизменять течение биохимических процессов в организме матери и способствовать прерыванию беременности. В частности, одной из причин невынашивания может стать недостаточное кровоснабжение плода вследствие закупорки сосудов плаценты.

Аполипротеин E (APOE) является одним из ключевых белков метаболизма липопротеинов и холестерина, обеспечивает связывание липопротеинов с рецепторами липопротеинов низкой плотности, которые выполняют в организме функцию переносчиков холестерина. Повышение их уровня может приводить к образованию жировых отложений в стенках сосудов, что, в свою очередь, приводит к недостаточному кровоснабжению плаценты. Помимо этого, закупорка сосудов ведёт к повышению артериального давления (гипертензии), что также негативно сказывается на вынашивании беременности. Роль полиморфизмов гена *APOE* в этиологии невынашивания беременности окончательно не выяснена. Данные многочисленных исследований противоречивы.

В нашей работе проанализированы частоты трёх аллелей гена *APOE*: E2, E3 и E4, наличие которых обусловлено нуклеотидными заменами в двух положениях 388T>C (Cys112Arg) и 526C>T (Arg158Cys), в группе пациенток с невыясненными причинами привычного невынашивания беременности и в группе фертильных женщин. Генотипирование образцов буккального эпителия проводили на амплификаторе для проведения ПЦР в реальном времени Bio-Rad CFX96. Наличие в генотипе аллеля E4 связывают с повышенным уровнем холестерина в крови, а носительство аллеля E2 с увеличением шансов развития атеросклероза.

Проведено сравнение частот аллелей и генотипов по гену *APOE* между группой пациенток Беларуси (687 человек) и группами пациенток из России (89 человек), Северной Индии (200 человек), США (69 человек) и Турции (543 человека) – в эти группы вошли женщины, которые имели как минимум 2 невыношенных беременности в анамнезе, а также между контрольными группами этих стран (группы женщин с двумя и более выношенными беременностями без патологии). Существенных различий по данным показателям в сравниваемых группах выявлено не было.

При сравнении частот полиморфных вариантов гена *APOE* в группе пациенток Беларуси (с невыясненными причинами привычного невынашивания беременности) и в группе фертильных женщин выявлены аллельные варианты (E2/E3 и E2/E4), наиболее информативные для определения риска патологии беременности.

А.И. Семашко, Е.Г. Веремеенко, Н.П. Максимова

БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ДАГФ-СИНТАЗ II ТИПА

Белорусский государственный университет
Республика Беларусь, 220030, г. Минск, пр. Независимости, 4
e-mail: veremeenkoKatya@yandex.ru

Бактерии рода *Pseudomonas* синтезируют феназиновые антибиотики, применяемые в сельском хозяйстве, медицине и биосенсорных технологиях. Эти соединения образуются в ходе реакций шикиматного биосинтетического пути. Первым и одним из самых важных ферментов данного пути является 3-дезоксид-арабиногептулозонат-7-фосфат-синтаза (ДАГФ-синтаза). На основании структурно-функциональных особенностей белкового продукта, ДАГФ-синтазы разделяют на два типа (I и II тип). ДАГФ-синтазы первого типа имеют молекулярную массу менее 40 кДа и могут быть разделены на два подтипа: Ia и Ib на основе особенностей их аллостерической регуляции.

К семейству ДАГФ-синтаз второго типа относят ферменты молекулярной массы около 50 кДа. Этот тип был впервые обнаружен в хлоропластах растений, а потом в дрожжах и микроорганизмах. Имеется очень мало информации о данном типе фермента, однако наши исследования позволяют предположить, что данный тип также можно разделить на два подтипа. К первому подтипу ферментов могут быть отнесены пептидные последовательности размером четыреста аминокислот. Это белки, которые у псевдомонад кодируются геном *phzC*, входящим в состав феназинового оперона. Ко второму подтипу, вероятнее всего, относятся последовательности размером 448 аминокислот. При выравнивании последовательностей выявлено, что все три сайта связывания фермента с субстратом, известные для белков, кодируемых *phzC*-геном, присутствуют также и у второго подтипа фермента данного типа.

Из анализируемых псевдомонад, только у *Pseudomonas fluorescens*, *P. aeruginosa* и *P. aurantiaca* были обнаружены оба подтипа ДАГФ-синтаз II типа. У остальных представителей рода имеются только гены, соответствующие белкам второго под-

типа. Также последовательности обоих белков были найдены для *Streptomyces cellostaticus*. У остальных бактерий замечено наличие только одного из двух подтипов.

Для построения филогенетического дерева были взяты описанные выше аминокислотные последовательности, соответствующие ДАГФ-синазам II типа обоих подтипов, а также последовательности схожих белков у цианобактерий.

На филограмме наблюдается четкое разделение выбранных последовательностей на две клады. Как и предполагалось, это группы, объединяющие белки первого и второго подтипа, соответственно. Все последовательности нескольких представителей цианобактерий оказались в группе со вторым подтипом ДАГФ-синтаз II типа. Таким образом, можно заключить, что помимо известного ранее одного подтипа ДАГФ-синтазы II типа, кодируемого *phzC*-геном, у бактерий рода *Pseudomonas* существует также и второй подтип, который требует дальнейшего изучения. Дополнительные исследования необходимы для формулирования окончательных выводов касательно происхождения и взаимосвязи ДАГФ-синтаз всех типов. Есть вероятность, что ДАГФ-синтазы цианобактерий могли являться предковыми для современных ДАГФ-синтаз бактерий и других организмов, можно сказать, что обнаруженный нами второй подтип ДАГФ-синтаз II типа является предшественником белков первого подтипа, а также белков первого типа. А уже в процессе дупликации и последующих мутаций образовались известные по литературе ДАГФ-синтазы Ia и Ib типов, а также ДАГФ-синтаза первого подтипа второго типа.

М.П. Смаль¹, А.И. Ролевич², Т.И. Набебина², С.А. Красный²,
Р.И. Гончарова¹

АЛЛЕЛЬНЫЕ ПОТЕРИ ГЕНОВ *CDKN2A* И *RBI* КАК ФАКТОРЫ НЕБЛАГОПРИЯТНОГО ПРОГНОЗА РАКА МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

¹*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27*

²*РНПЦ онкологии и медицинской радиологии
им. Н.Н. Александрова
Республика Беларусь, 223040, Минский район, п. Лесной-2
e-mail: M.Smal@igc.by*

Рак мочевого пузыря (РМП) представляет собой гетерогенную группу злокачественных новообразований, в основе возникновения и развития которых лежит комплекс молекулярных нарушений протоонкогенов и генов-супрессоров опухолей, играющих ключевую роль в поддержании клеточного гомеостаза. Инактивация генов-онкосупрессоров происходит за счет различных механизмов, включая точковые мутации, аллельные делеции, хромосомные нарушения и эпигенетические изменения, приводящие к потере функции соответствующих белков. Анализ молекулярных изменений задействованных в канцерогенезе генов приобретает все большую актуальность ввиду недостаточности одних только патоморфологических критериев для предсказания клинического течения данного онкологического заболевания и необходимости поиска дополнительных прогностических маркеров.

Целью исследования явилась оценка прогностического значения аллельного дисбаланса в локусах генов-онкосупрессоров *CDKN2A* и *RBI*, а также метилирования промоторной области гена *CDKN2A* в отношении отдаленных результатов лечения пациентов с РМП.

Установлено, что у пациентов с РМП аллельные делеции в локусе гена *CDKN2A*, наблюдающиеся с частотой 38,4%, статистически значимо ассоциированы с низкодифференцированными ($p=0,041$) опухолями больших размеров ($p=0,026$). В то же время, метилирование промоторной области этого гена обнаруживалось с равной частотой (11,4%) во всех группах опухолей независимо от их патоморфологических параметров.

Потеря гетерозиготности гена *RBI*, в свою очередь, достоверно чаще регистрировалась в агрессивных уротелиальных карциномах, характеризующихся солидным характером роста ($p=0,001$), низкой степенью дифференцировки ($p=0,007$), мышечной инвазией ($p=0,003$) и наличием метастазов ($p=0,001$). При мышечно-инвазивном РМП частота аллельных потерь в локусе *RBI* составила 38,8%, при РМП без мышечной инвазии – 15,7%. Многофакторный логистический регрессионный анализ с пошаговым исключением показал, что аллельный дисбаланс в локусе гена *RBI* является независимым фактором риска метастазирования РМП (отношение шансов 6,83; 95%ДИ 1,68–27,79; $p=0,007$).

Статистически значимых различий в безрецидивной и онкоспецифической выживаемости пациентов в зависимости от наличия или отсутствия исследуемых молекулярных нарушений выявлено не было. Вместе с тем, в отношении прогрессирования РМП без мышечной инвазии обнаружена достоверная связь совместного наличия аллельных делеций генов *CDKN2A* и *RBI* с неблагоприятным прогнозом ($p=0,004$, log-rank test). Многофакторный регрессионный анализ Кокса подтвердил независимое от клинических критериев влияние потери гетерозиготности обоих генов *CDKN2A* и *RBI* на прогрессирование заболевания в мышечно-инвазивную форму (отношение рисков 4,03; 95% ДИ 1,22–13,25; $p=0,022$).

Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ (договор М16К-017).

Е.Г. Смирнова¹, В.Н. Кипень^{1,2}, С.Б. Мельнов³, А.А. Мохорт⁴

**ИССЛЕДОВАНИЕ МУТАЦИОННОЙ
ИЗМЕНЧИВОСТИ ГЕНА *VHL* ПРИ РАКЕ
ПОЧКИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ PY-NRM (HIGH
RESOLUTION MELT ANALYSIS IN PYTHON)**

¹УО «Международный государственный экологический
институт им. А.Д. Сахарова» БГУ

Республика Беларусь, г. Минск, 220070, ул. Долгобродская, 23/1
e-mail: e.smirnova@tut.by

²ГУ «Научно-практический центр Государственного комитета
судебных экспертиз Республики Беларусь»

Республика Беларусь, 2200072, г. Минск, ул. Филимонова, 25

³Республиканское научно-исследовательское унитарное
предприятие «Бел НИЦ “Экология”»

Республика Беларусь, 220095, г. Минск, ул. Г. Якубова, 76

⁴ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии
и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»

Республика Беларусь, 223040, Минский р-н, аг. Лесной

В мире каждый год раком почки (РП) заболевают более 200 тыс. человек. РП – гетерогенная группа злокачественных опухолей: 75-80% из которых приходится на светлоклеточный РП (СРП); 5-10% составляют папиллярные карциномы; 5% – хромофобная карцинома и оставшиеся 5% представлены редкими формами – карциномой собирательных протоков, онкоцитомой и др. (Михайленко Д.С. и др., Онкоурология, 2010, №2, С.32-36).

В течение последних 10 лет благодаря исследованиям в области молекулярной биологии канцерогенеза накоплено большое число данных о механизмах развития РП (в первую очередь СРП). Ген *VHL* (von Hippel-Lindau tumor suppressor, NCBI Gene ID: 7428) подвергается инактивации при СРП в 30-60% опухолей вследствие соматических мутаций, потери гетерозиготности и/или метилирования. Миссенс-мутации или делеции/инсерции, приводящие к сдвигу рамки считывания генетической информации в одном трех экзонов гена *VHL* приводят к потере им своей функциональной активности. Спектр этих мутации очень широк – на данный момент аннотировано более 150 изменений в первичной последовательности гена (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>).

Наиболее приемлемой с позиций «затраты/время» схемой для анализа мутаций в гене *VHL* при РП является схема исследования с использованием методов SSCP (Single-strand conformation polymorphism) или более точного Real-time PCR с анализом кривых плавления (HRM, High Resolution Melting).

Первоначально нами были смоделированы и апробированы на приборе Bio-Rad CFX96 Touch для Real-time PCR семь пар праймеров для всех кодирующих регионов гена *VHL*. С использованием ПЦР были исследованы образцы опухолевой ткани РП, предоставленные РНПЦ «ОМР им. Н.Н. Александрова» от пациентов с клинически верифицированным диагнозом. Размер всех анализируемых ампликонов не превышал 250 п.о. Первичный анализ результатов с использованием открытого программного обеспечения PyHRM (High Resolution Melt Analysis in Python) показал наличие нескольких кластеров для каждого исследуемого ампликона. Точность дифференциации при максимально консервативных параметрах анализа составила более 95%.

В результате общая частота минорных кластеров для 1 экзона гена *VHL* среди пациентов с РП составила $22,0 \pm 5,9\%$, для 2 экзона – $15,9 \pm 5,5\%$, для 3 экзона – $27,0 \pm 7,3\%$. Полученные нами результаты хорошо согласуются с ранее описанными Михайленко Д.С. и др. (2010) данными. Однако, как правило, результаты для HRM-анализа являются несколько завышенными по сравнению с данными секвенирования.

В этой связи, дальнейшее исследование предполагает секвенирование 1-3 экзонов для тех образцов, которые были дифференцированы программой PyHRM как содержащие мутации. Определение частоты распространенности мутаций как соматической природы непосредственно в опухоли, а также мутационного спектра гена *VHL* в репрезентативной когорте пациентов мужского пола без РП позволит сократить затраты на секвенирование гена *VHL* и упростит возможные скрининговые мероприятия.

Работа выполнена при частичной поддержке БРФФИ: грант № Б17-090 «Изучение вклада молекулярно-генетических изменений и средового мутагенного давления в онкогенез (на примере рака почки)».

Е.Г. Смирнова¹, В.Н. Кипень^{1,2}, С.Б. Мельнов³, А.А. Мохорт⁴

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ ГЛУТАТИОН-S- ТРАНСФЕРАЗ ПРИ РАКЕ ПОЧКИ

¹УО «Международный государственный экологический институт им. А.Д. Сахарова» БГУ

Республика Беларусь, Минск, 220070, ул. Долгобродская 23/1
e-mail: e.smirnova@tut.by

²ГУ «Научно-практический центр Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь»

Республика Беларусь, 2200072, г. Минск, ул. Филимонова, 25

³Республиканское научно-исследовательское унитарное предприятие «Бел НИЦ “Экология”»

Республика Беларусь, 220095, г. Минск, ул. Г. Якубова, 76

⁴ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»

Республика Беларусь, 223040, Минский р-н, аг. Лесной

Индивидуальные особенности возникновения, течения и исхода ряда заболеваний, а также эффективности проводимой терапии во многом определяются статусом генов системы биотрансформации ксенобиотиков. Так, к настоящему времени уже выявлена роль отдельных генов данных систем в генезе ряда заболеваний, в том числе рака желудка и рака легкого (Е.В. Белогубова, 2000; С.И. Мартов, 2010). Система биотрансформации ксенобиотиков включает большое количество генов, кодирующих белки, участвующие в комплексе биохимических реакций детоксикации ксенобиотиков. Полиморфные варианты, в свою очередь, могут характеризоваться изменениями в кодирующих последовательностях генов – наблюдается, как правило, снижение их экспрессии, вплоть до полного ее подавления. Это оказывает влияние на активность ферментов и сбалансированность работы всей системы в целом. Частота полиморфных вариантов генов семейства глутатион-S-трансфераз (GST) на территории центрально-европейского региона колеблется в широких пределах: до 50% – для гена *GSTP1* (NCBI Gene ID: 7421), причем 10-15% составляют гомозиготы (А.А. Моисеев, 2008), 15-30% – для гена *GSTT1* (NCBI Gene ID: 2952) и 40-60% – для гена *GSTM1* (NCBI Gene ID: 2944).

Целью настоящего исследования явилось изучение статуса генов второй фазы биотрансформации ксенобиотиков у лиц с клинически верифицированным раком почки (РП): гена *GSTP1* (наиболее клинически значимый и распространенный полиморфизм – р.1105V (rs1695)); а также генов *GSTT1* и *GSTM1*, гомозиготная делеция и патологический генотип (0/0) которых приводят к снижению активности ферментов.

Материалом послужили 60 образцов опухолевой ткани почки, предоставленные РНПЦ «ОМР им. Н.Н. Александрова» от пациентов с клинически верифицированным диагнозом рака почки. Во всех случаях было получено информированное согласие. Генотип AG (Ile105Val) гена *GSTP1* встречался в 30,0% случаев, причем 8,3% составили гомозиготы (генотип GG). Делеции в генах *GSTT1* и *GSTM1* выявлены в 23,3% и 40,0% случаев соответственно. Следует отметить, что в 11 (18,3%) случаях определялось сочетание патогенетически значимых генотипов в нескольких генах.

Выявление частоты полиморфных вариантов генов системы биотрансформации ксенобиотиков также будет проведено в группе сравнения (добровольцы со сходными социально-демографическими характеристиками, не имеющие рака почки на момент исследования). Подобные исследования внесут вклад в определение распространенности полиморфных вариантов генов системы биотрансформации ксенобиотиков в Республике Беларусь среди мужского населения, а также в выявление индивидуальной предрасположенности к развитию РП, что является основанием для продолжения исследований в данном направлении.

Работа выполнена при частичной поддержке БРФФИ: грант № Б17-090 «Изучение вклада молекулярно-генетических изменений и средового мутагенного давления в онкогенез (на примере рака почки)».

Е.В. Снытков¹, В.Н. Кипень^{1,2}, С.Б. Мельнов^{1,3}

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПО ДАННЫМ
ПРОЕКТА 1000 ГЕНОМОВ ДЛЯ ГЕМБЛИНГ-
АССОЦИИРОВАННЫХ SNP-ЛОКУСОВ
В КОНТЕКСТЕ ГЕНОГЕОГРАФИИ**

¹УО «Международный государственный экологический институт им. А.Д. Сахарова» БГУ

Республика Беларусь, г. Минск, 220070, ул. Долгобродская, 23/1
e-mail: evsnytkov@gmail.com

²ГУ «Научно-практический центр Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь»

Республика Беларусь, 2200072, г. Минск, ул. Филлимонова, 25

³Научно-исследовательское унитарное предприятие «Бел НИЦ “Экология”»

Республика Беларусь, 220095 г. Минск, ул. Г. Якубова, 76

В МКБ-10 патологическая игровая зависимость (гемблинг) не выделяется в самостоятельную рубрику и может быть отнесена в раздел F 63.8 «Другие расстройства привычек и влечений», однако унифицированных критериев, классификации и конкретного определения новых форм зависимого поведения на данный момент не существует.

Lind et al. (2012), проведя GWAS (Genome-Wide Association Studies), определили генетические маркеры (SNP), ассоциированные с гемблингом ($p < 1 \cdot 10^{-5}$): rs8064100 (Chr.16:56691261, HGVS Names–NC_000016.10:g.56691261A>G), rs12237653 (Chr.9:2551654, NC_000009.11: g.2551654T>C), rs11060736 (Chr.12:130146390, NC_000012.11: g.130630935T>C), rs10812227 (Chr.9:2548556, NC_000009.11: g.2548556C>T), rs9383153 (Chr.6:16342825, NC_000006.11: g.16343056A>G), rs12305135 (Chr.12:130150660, NC_000012.11: g.130635205T>C), – для пациентов из Австралии.

Общеизвестно, что частота распространенности конкретного SNP имеет географическую зависимость. Таким образом, цель данного исследования – сравнить частоту встречаемости выявленных Lind et al. гемблинг-ассоциированных SNP-локусов по данным проекта «1000 геномов» – 1000G (<http://www.internationalgenome.org>), – для четырех регионально-контрастных регионов: CEU (Центрально-Европейский регион), CHB (Китай, КРН), JPT (Япония) и YRI (Нигерия).

Таким образом, для rs8064100 – частота аллеля А для популяции CEU – $57,08 \pm 3,29\%$, для популяции HCB – $95,35 \pm 2,27\%$, для JPT – $98,26 \pm 0,65\%$, для YRI – $88,05 \pm 2,16\%$. Для rs12237653 – частота аллеля Т для популяции CEU – $85,40 \pm 2,35\%$, для HCB – $59,30 \pm 5,30\%$, для JPT – $63,95 \pm 3,66\%$, для YRI – $88,84 \pm 2,10\%$. Для rs11060736 – частота аллеля Т для популяции CEU – $92,37 \pm 2,44\%$, для HCB – $76,74 \pm 4,56\%$, для JPT – $77,27 \pm 4,47\%$, для YRI – $99,14 \pm 0,86\%$. Для rs10812227 – частота аллеля С для популяции CEU – $89,17 \pm 2,84\%$, для HCB – $60,23 \pm 5,22\%$, для JPT – $66,67 \pm 4,97\%$, для YRI – $82,20 \pm 3,52\%$. Для rs9383153 – частота аллеля А для популяции CEU – $95,57 \pm 1,37\%$, для HCB – $60,47 \pm 5,27\%$, для JPT – $57,56 \pm 3,77\%$, для YRI – $71,68 \pm 3,00\%$. И для rs12305135 – частота аллеля Т для популяции CEU – $89,17 \pm 2,84\%$, для HCB – $74,44 \pm 4,60\%$, для JPT – $76,67 \pm 4,45\%$, для YRI – $99,17 \pm 0,83\%$.

Результаты GWAS (Lind et al., 2012) отличаются от данных проекта 1000G для выборки CEU только для полиморфизма rs12305135 ($p=0,02$), для остальных SNP статистически значимых различий выявлено не было. Также не было выявлено различий по всем SNP для выборок HCB и JPT. Выборка YRI отличается от других популяций по всем SNP, кроме rs12237653 (при сравнении с CEU $p=0,12$).

Таким образом, полученные результаты сравнения позволяют предположить, что данные SNP с высокой вероятностью также будут статистически значимо ассоциированы с патологической игровой зависимостью (гемблингом) и в Центрально-Европейский регионе. Данное предположение предстоит проверить на практике.

Е.В. Снытков¹, В.Н. Кипень^{1,2}, С.Б. Мельнов^{1,3},
И.В. Григорьева⁴

**ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ШИЗОФРЕНИЯ-
АССОЦИИРОВАННЫЕ SNP-ЛОКУСЫ
ДЛЯ НАСЕЛЕНИЯ ЦЕНТРАЛЬНО-ЕВРОПЕЙСКОГО
РЕГИОНА (АНАЛИЗ GWAS-ИССЛЕДОВАНИЙ)**

¹УО «Международный государственный экологический
институт им. А.Д. Сахарова» БГУ

Республика Беларусь, г. Минск, 220070, ул. Долгобродская, 23/1
e-mail: esnytkov@gmail.com

²ГУ «Научно-практический центр Государственного комитета
судебных экспертиз Республики Беларусь»

Республика Беларусь, 2200072, г. Минск, ул. Филлимонова, 25

³Республиканское научно-исследовательское унитарное
предприятие «Бел НИЦ “Экология”»

Республика Беларусь, 220095, г. Минск, ул. Г. Якубова, 76

⁴ГУ «Республиканский научно-практический центр
психического здоровья»

Республика Беларусь, 220053, г. Минск, Долгиновский тракт, 152

В МКБ-10 под заболеванием шизофрения (F20) принято рассматривать спектр расстройств, обычно характеризующихся существенными и характерными искажениями мышления и восприятия, а также неадекватными аффектами. Шизофрения (Шз) является заболеванием со сложным механизмом наследования, характеризующимся одновременным участием большого числа генов. Перспективными являются исследования, направленные на выявление связи геномных вариаций с эндофенотипами шизофрении (Марютина Т.М., 2013).

Результаты полногеномных исследований, представленные в GWAS Central (<http://www.gwascentral.org>) относительно поиска генетических ассоциаций с риском развития шизофрении – GWAS Cent. ID HGVST635 (N=1 171 пациент с Шз, американцы европейского происхождения), HGVST1819 (N=5 001 пациент с Шз, Швеция), – свидетельствуют в пользу того факта, что помимо тех SNP, для которых рассчитанное с поправкой на множественное сравнение (алгоритм FDR) значение нижнего порога 95% доверительного интервала (95% ДИ) отношения шансов (ОШ) >2,0, существуют иные полиморфные варианты в нете-

стрируемых генетических регионах, т.е. между SNP, входящими в таргетные коммерческие панели – например, Affymetrix® (Thermo Fisher Scientific) или Illumina®. Как правило, SNP (или иные полиморфные варианты) в этих регионах, расположенные, в свою очередь в кодирующих участках генома, и будут относиться к истинно ассоциированным (quantitative trait locus) или предрасполагающим (susceptibility locus) локусам к ШЗ.

Ассоциированными с уровнем значимости $p < 10^{-5}$ и нижней границей 95% ДИ для ОШ для пациентов с ШЗ из Европейского региона являются SNP: rs7527939 (1:210362681), rs802568 (7:146262151), rs4129148 (Y:1029445), rs7902091 (10:66838534), rs16977195 (15:86441009), rs2774292 (1:114172962), rs4846033 (1:11728507), – Betcheva E.T., 2013; Wang K.S., 2010; Lencz T., 2007; Børglum A.D., 2014; Sullivan P.F., 2008.

В то же время, Sullivan P.F. (2008) было показано, что риск-ассоциированными с ШЗ генами являются: *AKT1* (NCBI Gene ID: 207), *CSF2RA* (1438), *IL3RA* (3563), *PRODH* (5625), *RGS4* (5999), *ZDHC8* (29801), *COMT* (1312), *DAOA* (267012), *DISC1* (27185), *DRD3* (1814), *DTNBP1* (84062), *HTR2A* (3356), *NRG1* (3084), *PLXNA2* (5362), *SLC6A4* (6532).

Таким образом, функциональные полиморфные участки, имеющие фенотипическое выражение и значимо связанные с клиническим проявлением ШЗ, могут служить в качестве ценных генетических маркеров. Однако на данный момент не существует несомненных генов предрасположенности к ШЗ. Наибольший интерес для исследователей могут представлять гены *NRG1* и *DISC1* – именно для них показаны кластеры SNP с уровнем значимости $p < 0,01$, а также комбинации патогенетически значимых SNP в этих и др. генах.

**В.В. Соболев^{1,2,4}, А.В. Третьяков³, А.А. Лунькова³,
З.Г. Кокаева³, О.И. Рудько³, И.Е. Данилин⁵, А.Г. Соболева¹,
Л.Р. Сакания¹, И.М. Корсунская¹, Е.А. Климов^{2,3}**

АССОЦИЯ ГЕНОВ БИОСИНТЕЗА КАТЕХОЛАМИНОВ С ПСОРИАЗОМ

*¹Центр теоретических проблем физико-химической
фармакологии РАН*

Россия, 119991, г. Москва, Ленинский просп., 38А, корп. 1

*²ООО Университетская диагностическая лаборатория
Россия, 119331, г. Москва, проспект Вернадского, 29, пом. I*

*³Московский государственный университет имени
М.В.Ломоносова, биологический факультет
Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12*

*⁴ФГБУ Научно-исследовательский институт вакцин и
сывороток им. И.И. Мечникова*

Россия, 105064, г. Москва, Малый Казенный пер., 5а

*⁵Российский университет дружбы народов,
Медицинский институт*

*Россия, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8
e-mail: sobolew_vl@mail.ru*

Псориаз является мультигенным и многофакторным заболеванием кожи с гетерогенным генетическим наследованием. В качестве факторов предрасположенности в развитии псориаза участвуют психические расстройства, показана корреляция дерматологических заболеваний с патологической тревожностью и стрессом. Развивается и психофармакологическая терапия дерматологических заболеваний. Между тем, работ, описывающих молекулярные механизмы связи психоэмоциональных расстройств и кожных заболеваний, практически нет.

Целью данного исследования являлся поиск ассоциации с псориазом полиморфных участков генов, кодирующих ферменты и регуляторы биогенеза основных катехоламинов (дофамина, эпинефрина и норэпинефрина): *ССКАR* (rs1800857), *ССКBR* (rs1805002), *СОМТ* (rs4680), *DBH* (rs141116007, rs1611115, rs2097629), *TPH1* (rs1800532) и *MAOA* (VNTR, длинные повторы, 30 п.н.).

В работе использована цельная кровь пациентов с псориазом (n=88) и популяционная выборка жителей Москвы в качестве контроля (n=363). Выделение ДНК из крови проводили с использова-

ние набора Magna™ DNA Prep 200 (Лаборатория Изоген, Москва). Аллельное состояние генов анализировали методами ПЦР-ПДРФ, аллель-специфичной ПЦР и ПЦР в реальном времени с TaqMan-зондами (ДНК-синтез, Москва) с использованием наборов HS Taq ДНК полимеразы и qPCRMix-HS (Евроген, Москва). Результаты ПЦР-ПДРФ и аллель-специфичной ПЦР анализировали в 2% агарозном геле. ПЦР в реальном времени проводили на приборе CFX-96 (Bio-Rad, USA). Статистическую обработку проводили с использованием программ WinPeri (двусторонний критерий Фишера и критерий Пирсона).

Нами выявлены две статистически значимые ассоциации с псориазом: генотип GA замены rs4680 гена *COMT* ($F(p)=1,3E-5$; $\chi^2=19,16$, $p=1,2E-5$, $OR=3,47$) и аллель R5 VNTR в гене *MAOA* ($F(p)=2,2E-13$; $\chi^2=53,84$, $p=1,8E-9$, $p=8,56$). Для других исследованных замен в генах *CCKAR*, *CCKBR*, *DBH* и *TPH1* не обнаружено связи с псориазом. Механизм эффекта гетерозиготы по гену *COMT* не ясен. Возможно, гетеродимер *COMT* имеет другую степень сродства к субстратам: дофамин, эpineфрин и норэpineфрин. *MAOA* является одним из основных ферментов деградации дофамина и норэpineфрина, а также серотонина. Повторы в промоторе гена *MAOA* заметно влияют на транскрипционную активность гена. Аллель R5 (5 повторов, максимальное количество), по литературным данным, снижает транскрипционную активность гена *MAOA* по сравнению с аллелями средней длины. Таким образом, обнаруженные нами ассоциации могут приводить к дисбалансу дофамина/эpineфрина/норэpineфрина, что, по всей видимости, связано с патогенезом псориаза.

Е.Н. Сысолятин¹, Н.В. Анисимова¹, О.Г. Бабак¹,
В.С. Анохина², И.Б. Саук², И.Ю. Романчук²,
А.В. Кильчевский¹

КОРРЕЛЯЦИИ EST-SSR МАРКЕРОВ С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ПРОДУКТИВНОСТИ В ГИБРИДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ F₂ ЛЮПИНА ЖЕЛТОГО

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27

²Белорусский государственный университет
Республика Беларусь, 220030, г. Минск, пр. Независимости, 4
e-mail: Meeugeny@yandex.ru

Эффективность селекционных программ люпина желтого (*L. luteus* L.) может быть повышена путем интеграции современных молекулярно-генетических технологий с традиционными методами селекции. Однако, несмотря на хозяйственную важность этой культуры, методы маркер-сопутствующей селекции люпина желтого разработаны недостаточно.

Результативным способом выявления генетического разнообразия различных культур, в том числе люпина желтого, является оценка полиморфизма внутригенных микросателлитных повторов. Этот метод основан на анализе микросателлитных повторов (SSR), расположенных внутри кодирующих последовательностей ДНК (EST). Внутригенная локализация EST-SSR (expressed sequence tag simple sequence repeat) в сочетании с известными преимуществами микросателлитного анализа делает их высокоэффективными маркерами, удобными для генетико-селекционных исследований. Цель нашего исследования – определение связи аллельного состава EST-SSR-маркеров с отдельными признаками продуктивности в межсортовых гибридных популяциях люпина желтого (*L. luteus* L.).

С помощью восьми предварительно отобранных EST-SSR-маркеров (2itg03938, 2itg27515, 2itg14694, 2itg45631, 2itg26293, 2itg13638, 2itg50945, 2itg20349) были проанализированы три расщепляющихся гибридных популяции F₂ от скрещиваний сортов люпина желтого Tremosilla × БСХА 382, БСХА 13 × Tremosilla, БСХА 13 × Демидовский. Учитывали следующие признаки про-

дуктивности: количество бобов на растении, количество фенотипически здоровых и больных семян, масса семян с растения, масса 1000 семян.

Корреляционный анализ по методу Спирмена выявил наличие достоверной положительной взаимосвязи между присутствием в геноме образца аллели *itg27515* (207 п.н.) и массой 1000 семян ($r_s=0,3$). Растения, несущие аллель этого же маркера размером 213 п.н., формируют большее количество бобов ($r_s=0,3$), фенотипически здоровых семян ($r_s=0,4$) и имеют более высокую массу семян с растения ($r_s=0,4$). Присутствие в генотипе аллеля *itg45631* (150 п.н.) положительно коррелирует с количеством больных семян на растении ($r_s=0,4$).

Таким образом, установлены статистически значимые зависимости между присутствием в EST-SSR-профилях определенных фрагментов и степенью выраженности хозяйственно-ценных признаков. EST-SSR-маркеры *itg27515*, *itg45631* имеют перспективы использования в селекции желтого люпина для выявления высокопродуктивных и отбраковки нежелательных генотипов.

А.В. Третьяков¹, В.В. Соболев^{2,3,4}, З.Г. Кокаева¹, О.И. Рудько¹,
А.Г. Соболева², Л.Р. Сакания², И.М. Корсунская²,
Е.А. Климов^{1,4}

СВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *PDE4B* С ПСОРИАЗОМ

¹Московский государственный университет имени
М.В.Ломоносова, биологический факультет
Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, 1, стр. 12

²Центр теоретических проблем физико-химической
фармакологии РАН
Россия, 119991, г. Москва, Ленинский просп., 38А, корп. 1

³ФГБУ «Научно-исследовательский институт вакцин
и сывороток им. И.И. Мечникова»

⁴ООО «Университетская диагностическая лаборатория»
Россия, 119331, г. Москва, просп. Вернадского, 29, пом. I
e-mail: sobolew_vl@mail.ru

Псориаз является распространённым (2% населения) хроническим воспалительным заболеванием кожи, и, хотя природа этого заболевания не выяснена окончательно, имеются убедительные доказательства того, что генетическая предрасположенность и иммунологические факторы играют важную роль в его развитии. Также на возникновение и течение заболевания влияют инфекции, стрессы и психические травмы.

Фосфодиэстераза 4В (*PDE4B*) – фермент, гидролизующий циклический аденозинмонофосфат (сАМФ). Изменения экспрессии гена *PDE4B* ведут к изменению концентрации сАМФ внутри клетки. Увеличение экспрессии *PDE4B* показано в клетках крови пациентов с псориазом. Также показано закономерное снижение концентрации сАМФ у пациентов с псориазом. Полиморфные варианты гена *PDE4B* ассоциированы с шизофренией, биполярным расстройством, депрессией. Поиск ассоциаций полиморфных вариантов гена *PDE4B* с псориазом ранее не проводился. Между тем, препарат AN2728 – блокатор *PDE4B* – показал свою эффективность при лечении псориаза.

Цель работы – поиск ассоциаций полиморфных вариантов в гене *PDE4B* (rs1040716 A>T, rs10454453 C>A) с псориазом. Данные SNV расположены в 4 и 7 интронах гена *PDE4B*, соот-

ветственно, и ранее исследовались в связи с шизофренией и паническим расстройством.

В работе использована цельная кровь пациентов с псориазом (n=88) и контрольной выборки необследованных жителей Москвы – популяционный контроль (n=363). Выделение ДНК проводили с использованием набора Magna™ DNA Prep 200 (Лаборатория Изоген, Москва). Генотипирование проводили методом ПЦР в реальном времени с TaqMan-зондами (ДНК-синтез, Москва) с использованием набора qPCRmix-HS (Евроген, Москва). ПЦР в реальном времени проводили на приборе CFX-96 (Bio-Rad, USA). Статистическую обработку проводили с использованием программы WinPeri (критерий Фишера и критерий Пирсона) и программы APSampler v3.6.1 (поиск ассоциации с заболеванием комплексных гаплотипов).

По результатам работы выявлен протективный эффект минорного аллеля T замены rs1040716 (программа APSampler: Fisher's exact p-value=0,0416, OR=0,54714 CI(95%)=[0,29407...1,01798]). Функциональный эффект данной замены не известен. Учитывая связь гена *PDE4B* с психическими заболеваниями, часто коморбидными псориазу, а также эффективность блокады *PDE4B* при лечении псориаза, следует проанализировать и другие замены в данном гене.

**И.Г. Удина¹, В.М. Веремейчик², А.С. Грачева¹,
Е.Ю. Победоносцева¹, О.Л. Курбатова¹, И.С. Цыбовский²**

РАЗРАБОТКА СУДЕБНЫХ РЕФЕРЕНТНЫХ БАЗ ДНК-ДАННЫХ ДЛЯ МОСКВЫ И МИНСКА С УЧЕТОМ ГЕНЕТИКО-ДЕМОГРАФИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

*¹Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова Российской
академии наук*

Россия, 119991, г. Москва, ул. Губкина, 3

*²ГУ «Научно-практический центр Государственного комитета
судебных экспертиз Республики Беларусь»*

Республика Беларусь, 2200072, г. Минск, ул. Филимонова, 25

Необходимость создания судебных референтных баз ДНК-данных вызвала целый ряд популяционно-генетических исследований, направленных на установление частот встречаемости судебных микросателлитов. Отдельные исследования включают изучение выборок из населения городов России, однако лишь в некоторых исследованиях проводилось анкетирование для сбора генетико-демографических данных, которые необходимы для составления репрезентативной выборки из населения города. Для Республики Беларусь разработаны судебно-медицинские базы данных, однако отдельно база данных для г. Минска с учетом генетико-демографических процессов не создана. Для осуществления генетического прогноза динамики частот судебных маркеров в мегаполисах необходимо рассмотрение генетико-демографических процессов, в частности, необходима характеристика интенсивности, этнического состава и дальности миграции, а также структуры межэтнических браков.

Рассмотрено создание судебных референтных баз ДНК-данных для основных этнических групп двух мегаполисов – Минска (белорусов) и Москвы (русских). Проведено генетико-демографическое анкетирование, позволившее выявить жителей мегаполисов, принадлежащих к преобладающей в каждом мегаполисе этнической группе и не имеющих в двух предшествующих поколениях представителей других этнических групп. В сформированных группах из 194 жителей Минска и 218 жителей Москвы изучены 17 аутосомных микросателлитов: 15 тетра-нуклеотидных STR-локусов (D2S1338, TPOX, D3S1358, CSF1PO,

D5S818, D8S1179, D7S820, THO1, vWA, D13S317, D16S539, D18S51, D19S433, D21S11 и FGA) и два пентануклеотидных локуса (Penta D и Penta E). Изученные выборки находятся в равновесии Харди-Вайнберга. Достоверных различий по 17 STR между изученными выборками, представляющими два родственных восточнославянских народа, не выявлено. Анализ анкет позволил описать специфические параметры генетико-демографических процессов в двух мегаполисах: отмечен высокий уровень миграции с коэффициентом миграции 0,398 (в Минске) и 0,485 (в Москве) с высокими оценками среднего расстояния миграции. На основе анализа потоков генов по мужской и женской линии в мегаполисах сделаны прогнозы для динамики их генофондов, что необходимо не только для создания баз ДНК-данных по аутосомным судебным STR, но и по маркерам NRY Y-хромосомы и мтДНК.

Е.А. Фомина¹, С.В. Малышев¹, С.Н. Куликович²,
О.Ю. Урбанович¹

**ВЛИЯНИЕ ГЕНОВ КОРОТКОСТЕБЕЛЬНОСТИ
RHT1, *RHT2* И *RHT8* НА ВЫСОТУ РАСТЕНИЙ
СОРТОВ И ЛИНИЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ
(*TRITICUM AESTIVUM* L.) В УСЛОВИЯХ БЕЛАРУСИ**

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27

²РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси
по земледелию»

Республика Беларусь, 222160, г. Жодино, ул. Тимирязева, 1
e-mail: E.Fomina@igc.by

Использование генов короткостебельности для снижения роста с целью предотвращения полегания злаков и увеличения урожайности является важным направлением селекции высокоурожайных сортов мягкой пшеницы. Описано более 21 гена короткостебельности. Гены, определяющие рост растений, можно разделить на две группы в зависимости от их реакции на экзогенную гибберелиновую кислоту (ГК). Нечувствительные к ГК гены короткостебельности располагаются на коротких плечах хромосом 4В и 4D, а гены, чувствительные к ГК, – на хромосомах 2А, 2DS, 7BS и 5А. Один из генов короткостебельности *Rht8* локализован на коротком плече 2D хромосом. Гены *Rht1* и *Rht2* располагаются на гомеологичных участках хромосом 4В и 4D соответственно.

Целью данной работы было исследование аллельного разнообразия генов *Rht1*, *Rht2* и *Rht8* и выявление ассоциации между их аллелями и высотой растения в сортах и линиях пшеницы, используемых в белорусской селекции.

Нами было исследовано аллельное разнообразие генов *Rht1*, *Rht2* и *Rht8* в коллекции из 75 сортов и линий озимой пшеницы, используемых в селекционном процессе РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по земледелию» (г. Жодино).

В целом в результате анализа аллельного состава генов карликовости *Rht1*, *Rht2* и *Rht8* были выявлены перспективные образцы, несущие *Rht-B1b* и *Rht-D1b* мутации, приводящие к снижению высоты растения, а также WMS261 192 аллель (*Rht8c*), сцепленный с *Rht8* геном. Среди сортов и линий исследуемой

коллекции 3 (4%) несут в своем геноме аллель *Rht-B1b*, 5 (6,7%) – аллель *Rht-D1b*, 24 (32,0%) – аллель *Rht8c*, 16 (21,3%) – одновременно аллели *Rht-B1b* и *Rht8c* и одновременно аллели *Rht-D1b* и *Rht8c*, приводящие к снижению высоты растения.

Средняя высота растений во всех выборках, содержащих аллели *Rht-B1b*, *Rht-D1b* и *Rht8c*, оказалась значительно ниже, чем в выборке растений, не имеющих в своем генотипе ни одного из данных аллелей ($P < 0,001$). Наибольший эффект на снижение высоты растения был выявлен в выборке, содержащей комбинацию аллелей *Rht-B1b+Rht8c*, в которой средняя высота растения составила 71,8 см. Этот показатель значительно ниже по сравнению с выборками, содержащими данные аллели по отдельности: среди сортов и линий, содержащих только аллель *Rht-B1b* средняя высота растения была равна 73,2 см, среди сортов и линий, содержащих только аллель *Rht8c*, – 76,6 см. Средняя высота растений в выборках, содержащих аллельные формы генов *Rht1*, *Rht2* и *Rht8*, приводящие к снижению высоты растения, оказалась ниже средней в исследуемой коллекции, которая была равна 79,1 см.

Результаты исследования аллельного состава генов короткостебельности *Rht1*, *Rht2* и *Rht8* в сортах и линиях озимой пшеницы могут быть использованы в селекционном процессе.

Н.Н. Чакова¹, С.С. Ниязова¹, С.М. Комиссарова²

ХАРАКТЕРИСТИКА МУТАЦИЙ У ПАЦИЕНТОВ С ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ, УМЕРШИХ ПО ПРИЧИНЕ ВНЕЗАПНОЙ СЕРДЕЧНОЙ СМЕРТИ ИЛИ ИМЕЮЩИХ ВЫСОКИЙ РИСК ЕЕ РАЗВИТИЯ

¹Институт генетики и цитологии НАН Беларуси

Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27

²Республиканский научно-практический центр «Кардиология»
Республика Беларусь, 220036, г. Минск, ул. Р. Люксембург, 110Б

Актуальность: Гипертрофическая кардиомиопатия (ГКМП) относится к наследственной патологии, основной причиной которой являются мутации в генах, кодирующих белковые компоненты миофибрильного аппарата кардиомиоцитов. ГКМП является наиболее распространенной формой первичных кардиомиопатий (0,05-0,2% населения). Опасным исходом заболевания является внезапная сердечная смерть (ВСС) пациента, которая составляет 2-6% и часто происходит в молодом возрасте.

Цель работы: у пациентов с ГКМП и высоким риском внезапной сердечной смерти (ВСС) определить спектр мутаций в генах, кодирующих саркомерные белки кардиомиоцитов, и оценить их статус.

Материалы и методы: Поиск мутаций в кодирующих последовательностях генов *ACTC1*, *MYBPC3*, *MYH7*, *MYL2*, *MYL3*, *TNNI3*, *TNNT2* и *TPM1* проводили методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) для 26 неродственных пациентов: 9 пациентов умерли по причине ВСС, 4 пациентам проведена успешная реанимация и имплантирован ИКД, у 13 пациентов анамнез отягощен наличием ВСС у ближайших родственников.

Результаты: У 19 пациентов (73,1%) обнаружены 25 гетерозиготных замен в генах *MYBPC3*, *MYH7* и *ACTC1*. У 7 пациентов (26,9%) значимых генетических изменений не установлено. У 12 из 19 пациентов (63,2%) выявлены уже описанные в литературе мутации, являющиеся причиной ГКМП, а именно 7 мутаций (53,8 %) в гене *MYH7* (Val186Leu, Arg403Trp (у 2 человек) Lys450Glu, Val606Met, Glu924Lys и Arg1712Trp), 5 мутаций (38,5%) в гене *MYBPC3* (Arg346His, Arg502Gln, Asp610Asn, Trp1214Arg и Gln1233*) и 1 мутация (7,7%) Leu238Pro в гене

ACTC1. Обнаружены 12 замен с неустановленной клинической значимостью (VUS), причем 91,7% из них приходились на ген *MYBPC3*: 6 редко встречающихся в популяции (Ser217Gly, Ser236Gly, Arg326Gln – у 2 человек, Glu894Asp, Val896Met – у 3 человек, Pro1066Arg в гене *MYBPC3*) и 2 не описанные ранее (Trp1007fs (сдвиг рамки считывания), Tyr1043* (стоп-кодон)). Замены Arg326Gln и Val896Met в обследуемой выборке встречались чаще, чем в проекте «1000 геномов» (0,0385 против 0,0008 и 0,0577 против 0,0016, соответственно), что возможно, указывает на их существенную модифицирующую роль в проявлениях ГКМП. В гене *ACTC1* мутация Glu6Lys также найдена впервые. В гене *MYH7* не выявлено замен с неустановленной клинической значимостью. Следует подчеркнуть, что в 6 (31,6%) случаях найдены двойные замены в различных сочетаниях: Arg326Gln и Val896Met, Arg326Gln и Gln1233*, Asp610His и Pro1066Arg, Trp1007fs и Val896Met, Tyr1043* и Ser236Gly в гене *MYBPC3*, а также Arg502Gln в гене *MYBPC3* и Arg1712Trp в гене *MYH7*. Интересен тот факт, что у 5 из 6 пациентов обе замены находились в гене *MYBPC3* и только у одного пациента вторая замена была в гене *MYH7*.

Заключение: Впервые у пациентов с ГКМП из Беларуси, умерших по причине ВСС или имеющих случаи ВСС у ближайших родственников, определены генетические особенности и дана оценка их клинической значимости. Обнаруженные генетические изменения являются факторами высокого риска ВСС и могут иметь решающее значение при прогнозировании неблагоприятных исходов у пациентов с ГКМП и их ближайших родственников.

О.П. Шатарнов, Т.М. Шатарнова, О.Г. Давыденко

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ КОЛЛЕКЦИИ ЛИНЕЙНОГО МАТЕРИАЛА КАК ОСНОВА ГИБРИДНОЙ СЕЛЕКЦИИ ПОДСОЛНЕЧНИКА МАСЛИЧНОГО В БЕЛАРУСИ

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: shatarnov@tut.by*

Подсолнечник (*Helianthus annuus* L.) – одна из основных масличных культур в мире, но в то же время она не является традиционной культурой для Беларуси. Экологические испытания сортов и гибридов зарубежной селекции в условиях нашего региона свидетельствуют о возможности возделывания его в промышленных масштабах. В Государственный реестр сортов Беларуси внесено 47 гибридов подсолнечника, в основном среднеспелые и позднеспелые, что не всегда может обеспечить получение качественных маслосемян вследствие климатических особенностей в период созревания-уборки. Расширение ассортимента раннеспелых и ультраранних гибридов для нашей страны, имеющих высокую продуктивность при сокращенном периоде вегетации растений, является экономически целесообразным решением.

Цель данной работы – создание коллекций новых константных, генетически однородных самоопыленных материнских раннеспелых линий-закрепителей стерильности и отцовских линий-восстановителей фертильности пыльцы подсолнечника. А также изучение генетической изменчивости основных хозяйственно ценных признаков созданных нами инбредных линий подсолнечника в зависимости от генотипических и средовых факторов; выделение лучших по хозяйственно ценным признакам линии для дальнейшего использования их в селекции гибридного подсолнечника.

Полученные ранее в Институте генетики и цитологии НАН Беларуси самоопыленные родительские линии подсолнечника практически полностью исчерпали свой генетический потенциал. Для расширения генетического разнообразия был создан синтетик из высокопродуктивных самоопыленных линий и лучших гибридов (по урожайности и устойчивости к основным заболеваниям) иностранной селекции, различающихся также по вы-

соте растений и периоду вегетации. В процессе исследований создан новый селекционный материал самоопыленных линий-закрепителей стерильности (I_4 - I_6) и их ЦМС аналогов (BC_3 - BC_5), а также линий-восстановителей фертильности пыльцы (I_3 - I_6). Изучалась генетическая изменчивость основных хозяйственно ценных признаков у созданных нами инбредных линий подсолнечника в зависимости от генотипических и средовых факторов. В селекции подсолнечника на скороспелость могут представлять интерес линии: M10(5)/13B, M10(7)/13B, M40/14B M45/14B и M46/14B, масличность семян которых была 44,4-52,9% при периоде всходы-цветение 48-53 дня. Из группы среднеспелых выделены линии: M8(6)/13B, M39/14B, M42/14B, M49/14B, M57/14B, M61/14B, M62/14B, M140(1)/15B, M166(4)/15B, M242(8)/15B, M244(9)/15B, M246(8)/15B и M248(8)/15B. Урожай семян у них составлял 15,1-19,3 ц/га, а масличность – 45,2-50,8%. В селекции отцовских форм интерес представляют скороспелые и раннеспелые линии с хорошими показателями масличности, устойчивости к склеротинии. По этим показателям из группы скороспелых выделены линии M108(8)/13Rf, M109(8)/13Rf и M16(6)/13Rf с масличностью 44,9; 44,0; 46% и периодом всходы-цветение 48-53 дня. Из раннеспелых – M105(2)/13Rf, M4/14Rf, M3/14Rf, M7/14Rf, M94(2)/15Rf, M94(8)/15Rf с масличностью 43,3-47,4% и высокой пыльцевой продуктивности и толерантности к склеротинии.

**Е.К. Шематорова, Д.Г. Шпаковский, А.В. Аралов,
И.Ю. Словохотов, В.Н. Клыков, А.Д. Чернышёва,
Ю.В. Долудин, Г.В. Шпаковский**

НОВЫЕ ПАРТНЁРЫ МИНОРНЫХ ИЗОФОРМ hRPB11bβ И hRPB11cβ СУБЪЕДИНИЦЫ РНК- ПОЛИМЕРАЗЫ II POLR2J (hRPB11) ЧЕЛОВЕКА

*Институт биоорганической химии имени академиков
М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук
Россия, 117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая 16/10
e-mail: gvs@ibch.ru*

С помощью генетического (дрожжевая двухгибридная система, YTH) и биохимических (соосаждение белков из клеточных лизатов, иммунопреципитация) подходов осуществлён поиск белков-партнёров минорных изоформ hRPB11bβ и hRPB11cβ субъединицы РНК-полимеразы II POLR2J (hRPB11) в протеоме эмбрионального мозга человека и клеточной линии Jurkat. Выявлено пять новых компонентов интерактома этих «нестандартных» изоформ: белки T-STAR (SALPβ), Sam-68' (C1orf59), HPS5, PRAME и POLR2C (hRPB3). Выделенная из YTH-клонотеки плазида pB42AD-hRPB3 несёт полноразмерную κДНК *POLR2C*, кодирующую полноразмерный белок hRPB3 (275 а.о.). То, что только такой, целый белок hRPB3 оказался способным взаимодействовать с изоформами hRPB11bβ и hRPB11cβ, ещё раз доказывает критическую важность для этих белковых взаимодействий участка hRPB3, содержащего *N*-концевой α-мотив (а.о. 1-38). Большой интерес представляет обнаружение среди партнёров изоформ hRPB11bβ и hRPB11cβ РНК-связывающих белков T-STAR (SALPβ) и Sam-68' (C1orf59), которые, как и ранее обнаруженный RBM8A (Y14), взаимодействуют с белком hRBMγ, в комплексе с SR(Serine-/Arginine-Rich)-белками, регулирующим альтернативный сплайсинг в мужской герминальной линии при сперматогенезе [J. Cell Sci., 2010, 123: 40-50]. Как показали недавние работы, во многом те же РНК-связывающие полипептиды (прежде всего, RBM8A (Y14) и SR-белки) также важны в процессе кортикогенеза (cortico genesis), при формировании коры больших полушарий. Тот факт, что подавляющее большинство взаимодействий (партнёров) изоформ hRPB11bβ и hRPB11cβ найдено при скрининге клонотеки эмбрионального мозга, где по данным Нозерн-анализа

различных тканей человека, и синтезируется больше всего мРНК *POLR2J2* (*hRPB11bβ*) и *POLR2J3* (*hRPB11cβ*) [BMC Mol. Biol., 2001, 2: 14], чётко указывает на то, что функция изучаемых нами новых изоформ POLR2J (*hRPB11*) человека реализуется прежде всего в нервной ткани.

Нами также установлены участки изоформ *hRPB11bβ* и *hRPB11cβ*, определяющие взаимодействия этих минорных субъединиц РНК-полимеразы II человека с другими белками протеома *Homo sapiens*. Оказалось, что за взаимодействие с белками FASTKD2, PRAME, HPS5, Sam68' и T-STAR ответственна N-концевая половина *hRPB11bβ* (*hRPB11cβ*), содержащая характеристический для субъединиц *hRPB11* и *hRPB3* α-мотив: а.о. 1-47. В то же время, взаимодействие с белками DROSHA, *hRPB6*, EIF6, RBM8A, DCAF7, ACTG1, а также RACK1 и PDCD2 определяется в основном C-концевым доменом длиной 69 а.о., специфичным для *hRPB11bβ* (*hRPB11cβ*): а.о. 48-116. Проведены первые опыты по подавлению экспрессии генов *POLR2J2* и *POLR2J3* в клеточной линии HEK293 с помощью РНК-интерференции. Для этого были сконструированы и химически синтезированы как «природные» siRNAs (5'-CCCAAUGCCUGUUUAUUCAtt-3' и 5'-CCCAAUGCGACUUUAUUCAtt-3'), так и разработанные в нашей лаборатории их новые модифицированные аналоги по цитозиновому основанию, призванные увеличить термодинамическую стабильность дуплексов siRNAs и облегчить их доставку внутрь клетки.

В.Е. Шимко, И.А. Гордей

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ
ИДЕНТИФИКАЦИЯ САМОФЕРТИЛЬНЫХ
ЛИНИЙ ОЗИМОЙ РЖИ (*SECALE CEREALE* L.)
ПО 5R ХРОМОСОМЕ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ
В СЕЛЕКЦИИ НА ГЕТЕРОЗИС**

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27
e-mail: V.Shimko@igc.by*

Для повышения эффективности селекции гетерозисных гибридов необходимо расширение и обновление генофонда инцухт-линий на генетической основе современных высокоурожайных сортов ржи. Одним из актуальных направлений исследований ржи является создание короткостебельных сортов и гибридов, устойчивых к полеганию. Среди известных типов короткостебельности ржи наиболее удобным и значимым для селекции является тип короткостебельности, обеспечивающийся одним доминантным геном – *Ddw1* (5R). В наших исследованиях проанализированы 35 СФ-линий озимой ржи коллекции Института генетики и цитологии НАН Беларуси с помощью молекулярных маркеров SCM138 и REMS1218, расположенных на 5R хромосоме. Известно, что маркер SCM138 расположен в прицентромерной области 5R хромосомы ржи. В нашем исследовании SSR-маркер SCM138 детектировал фрагменты 173 п.о. и 184 п.о. Исследуемые СФ-линии и сорт-контроль «Зарница» детектировали фрагменты как 173 п.о., так и 184 п.о. Выявленный полиморфизм по SSR-маркеру SCM138 связан как с различным генетическим происхождением исследуемых форм, так и с перекрестным способом опыления растений.

Благодаря способности снижать высоту растений и плейотропному влиянию на важнейшие хозяйственно-ценные признаки гены короткостебельности широко используются в селекции. Проведено молекулярное маркирование изучаемых форм по определению генов доминантной короткостебельности (*Ddw1*). Известно, что *Ddw1* расположен на длинном плече хромосомы 5R и тесно сцеплен с микросателлитным локусом *REMS1218*. ПЦР-анализ ядерной ДНК исследуемых форм выполнен с помощью праймеров *REMS1218*. Наличие гена *Ddw1* определяли с помо-

шью фрагментного анализа. Фрагмент REMS1218 детектировался у 5-ти исследованных СФ-линий, следовательно, данные образцы могут быть использованы в качестве родительских форм для создания новых короткостебельных сортов и гибридов.

В результате исследований проведены скрещивания маркерных генотипов для создания новых самофертильных линий и гетерозисных гибридов F_1 озимой ржи. Сравнительный анализ гибридов F_1 , полученных с использованием мужски стерильных (МС) линий на основе ЦМС Р- и G-типов и СФ-линий озимой ржи позволил выявить различия гибридных форм по признакам зерновой продуктивности растений. Показано снижение озерненности на 31% у гибридов F_1 на основе ЦМС Р-типа, что связано с более сложным контролем Р-ЦМС ядерных генов и выраженными нарушениями в митохондриальном геноме. Гибриды F_1 , полученные на основе МС-форм G-типа, превышали гибриды на основе ЦМС Р-типа по массе зерна с колоса в среднем в 1,6 раза. Наиболее стабильной зерновой продуктивностью характеризовались гибриды F_1 , полученные на основе скрещиваний МС-форм Р-, G-типов и СФ-линии Пл71.

Результаты исследований позволили выявить генотипическую специфичность линий озимой ржи по изучаемым признакам, что будет способствовать целенаправленному созданию новых самофертильных форм и высокопродуктивных гетерозисных гибридов и использования в генетических исследованиях и практической селекции.

М.М. Якубова, О.В. Усманова, Б.С. Солехзод

ВЛИЯНИЕ ГЕНОТИПА НА ПРОДУКТИВНОСТЬ *A. THALIANA* ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ МУТАНТНЫХ РАСТЕНИЙ В КОНТРАСТНЫХ УСЛОВИЯХ СРЕДЫ

Центр инновационной биологии и медицины АН РТ
Республика Таджикистан, 734017, г. Душанбе, ул. Каримова, 27
e-mail: mukhiba@mail.ru

Исследования по модифицирующему влиянию экологических условий и генотипической среды на проявление мутантного гена имеют как научный, так и практический интерес. В экспериментах, проводимых в этом направлении, целесообразно использовать мутанты. Известно, что мутанты представляют собой новые генотипы по сравнению с исходными формами, отличаясь от них не только морфологическими признаками, но и нормой реакции на условия внешней среды. Проведение экологических испытаний мутантов ставит своей целью установление закономерностей в проявлении и выражении разных мутантных признаков в меняющихся условиях среды и выделении перспективных форм для культивирования в определенных географических зонах, а также для выяснения возможностей использования мутантов в скрещиваниях.

В качестве объекта исследований из генетической коллекции были взяты четыре моногенно наследуемых морфологических мутанта арабидопсиса – *tr1* (*triplex*), детерминирующих тройные стручки на плодоножке, *cla* (*clavata*), булавовидные стручки; *as* (*asymmetrical*), листья розетки асимметричные, выпуклые; *xas* (*xanthoseminalis*) желтая окраска семян и исходная раса *En* (*Enkheim*).

Растения выращивали при разных экологических условиях: в весенний период на опытном участке в Душанбе (800 м над ур. моря), а летом (июнь–сентябрь) на опытном участке высокогорной Биостанции «Сия-Кух» (высота 2500 м над ур. моря).

В процессе роста и развития при достижении растениями фазы массового плодоношения, провели учёт количественных признаков – показателей продуктивности.

Изучение семенной продуктивности показало, что при выращивании мутантов *as*, *cla*, *xas*, *tr* и исходной расы *En* в условиях Душанбе число семян находится в пределах 4000-7800 штук на одно

растение. Пониженную семенную продуктивность в опыте показали мутанты *cla* и *as*, а у мутантов *xas* и *tr* сформировалось больше семян на растение даже в сравнение с контролем – расой *En*.

При выращивании этих же растений в условиях высокогорья было отмечено, что фенотипические признаки, характеризующие мутантные формы, стабильно сохранялись. Вместе с тем, количественные признаки по всем основным показателям – числу семян в стручке и на растение – оказались заниженными. Известно, что растения арабидопсиса относятся к длиннодневным формам, поэтому заниженные показатели семенной продуктивности можно объяснить тем, что культивирование растений в условиях высокогорья проводили с июля по сентябрь, а фаза плодоношение-созревание пришлась как раз на сентябрь, когда световой день значительно короче. Однако, несмотря на заниженные показатели семенной продуктивности (1900–3900 шт.) всех линий, выращенных в условиях высокогорья, раса *En*, мутантные линии *tr*; *xas*, по сравнению с линиями *as* и *cla*, также сохранили (как и в опыте в Душанбе) потенциал на повышенную продуктивность, что указывает на существенное влияние генотипа.

Таким образом, результаты исследований свидетельствуют о том, что как генотипическая среда, так и экологические условия могут существенно модифицировать эффект действия мутантного гена. Из этого следует, что испытание мутантов в разных географических пунктах и скрещивание их с другими формами или сортами можно рекомендовать в качестве эффективных методов использования мутантов в селекции.

**A. Turgimbayeva^{1,2}, S. Abeldenov¹, D. Akhmetova³,
M. Saparbayev⁴, Y. Ramankulov¹, B. Khassenov¹**

STUDY OF DNA REPAIR ENZYMES OF HUMAN PATHOGENS

¹RSE «National Center for Biotechnology»
Kazakhstan, 010000, Astana, Kurgalzhynskoye Road, 13/5

²L.N. Gumilyov Eurasian National University
Kazakhstan, 010000, Astana, Satpayev Street, 2

³JSC «Republican Diagnostic Center»
Kazakhstan, 010000, Astana, Syganak Street, 2

⁴Institute of Gustav Roussy
France, 94800, Villejuif, 114 rue Edouard-Vaillant
e-mail: turgimbayeva@gmail.com

The World Health Organization has approved a list of pathogens that are perspective for development of new antibiotics, including *Mycobacterium tuberculosis*, *Helicobacter pylori* and *Staphylococcus aureus*. Kazakhstan is among 27 countries in the world with a high incidence of multidrug-resistant tuberculosis and ranks seventh in the world for the incidence of gastric cancer, in most cases provoked by *H. pylori*. Infections caused by *S. aureus* occur everywhere, 30% of world population are its carriers. It is known that the targets of antibiotics are various cellular components of important physiological processes of bacteria. One of such processes is DNA repair, which is responsible for the integrity of genomic DNA. Under the influence of endogenous and exogenous factors *reactive oxygen species* (ROS) and nitrogen (RNS) are formed in the process of cell activity, which lead to damage of DNA bases. To restore DNA damage microorganisms trigger one of the repair mechanisms – base excision repair (BER). BER system includes enzyme classes: specific DNA glycosylases that recognize and remove damaged bases; AP-endonucleases, which cleave DNA strand with apurinic/apyrimidine sites; DNA polymerase and DNA ligase.

The aim of the work is biochemical characterization of recombinant DNA repair enzymes of human pathogens, such as *M. tuberculosis*, *H. pylori* and *S. aureus*. The experimental part of research is based on genetic engineering techniques (polymerase chain reaction, restriction, ligation, temperature shock transformation, Sanger sequencing) and methods of biochemistry using radiolabeled

oligonucleotides. *xth* and *nfo* genes were amplified from genomic DNA of *M. tuberculosis*, *H. pylori* and *S. aureus* by polymerase chain reaction. Gene-specific oligonucleotides were selected on the basis of a full genomic analysis of bacteria. Next, target genes were cloned in the pET-28c(+) and pMBP-His-parallel2. In the obtained genetic constructs using pET-28c (+) plasmid, the genes were inserted under the control of the T7 bacteriophage promoter, and in pMBP-His-parallel2 - under the control of the artificially synthesized tac-promoter. Purification of recombinant proteins was carried out by metal affinity chromatography. Obtained recombinant proteins were used in experiments to determine biochemical and substrate-specific activity. Dependence of enzymes on metals, pH and buffer composition was determined. Kinetic parameters of DNA repair activities of enzymes were measured. These studies form the basis for understanding the role of DNA repair enzymes in pathogenesis of bacteria. The study of DNA repair mechanisms of pathogenic bacteria has prerequisites for the development of new medicinal targets, methods of treatment and prevention of infectious diseases.